

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO –2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

APROVADA em 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Jamil Constantin

Prof. Dr. Robinson Luiz Contiero

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior
(Orientador)

Aos meus amados pais que me deram condições para chegar até aqui; sempre me apoiaram e fizeram de mim o que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo que está na Terra, Deus. Muito obrigado, oh! Pai por permitir que eu alcançasse este objetivo, por ter-me dado forças, perseverança e a certeza de que eu conseguiria, pois estou ao Seu lado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela imprescindível ajuda financeira.

Ao meu orientador, um obrigado mais que especial, Professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., que, honra como poucos o papel de professor e mestre; ajudou-me, apoiou-me, orientou-me, decepcionou-se e empolgou-se com fracassos e sucessos sempre ao meu lado, dando-me a garantia intelectual de que conseguiríamos.

Aos Professores Dr. Jamil Constantin, Dr. Carlos Alberto Scapim e Dr. Alessandro de Lucca e Braccini, pelo apoio e sugestões que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

À equipe de servidores do Laboratório de Plantas Daninhas – UEM – Maringá – PR., pois sem ela este trabalho não seria possível.

Aos colegas e amigos de Pós-graduação, pelo companheirismo e pela contribuição para meu crescimento intelectual.

Ao Luís Machado Homem e Milton Lopes da Silva por ajudarem sempre nos trabalhos a campo.

Aos verdadeiros amigos: Éder Blainski, Éverton Blainski, Rachel Muylaert Locks Guimarães e Sidnei Douglas Cavalieri pelo apoio e pelo ombro amigo nos momentos difíceis.

À minha família, em especial ao meu pai e minha mãe pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À minha querida namorada e amiga Márcia Maria Parente Santini, sempre presente, apoiando-me, incentivando-me e dando força nos momentos difíceis.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma cooperaram para o planejamento e execução deste trabalho.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN, filho de José Dvoranen e Amália Regina Dvoranen, nasceu na cidade de Marialva, Paraná, aos nove dias do mês de junho de 1980.

Em 2000, matriculou-se no Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Iniciou, no ano seguinte, com a participação em trabalhos de pesquisa com Plantas Daninhas, na orientação dos Professores Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. e Dr. Jamil Constantin.

Graduou-se em março de 2005 e no mesmo mês iniciou o Curso de Pós-graduação em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá – Maringá - PR.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	2
INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR	2
Resumo	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 MATERIAL E MÉTODOS	6
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	26
EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR.	26
Resumo	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	40
CONCLUSÕES	44
APÊNDICE	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência ...	6
Tabela 2	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	7
Tabela 3	Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha ⁻¹ , épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja	8
Tabela 4	Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação	10
Tabela 5	Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	12
Tabela 6	Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	14
Tabela 7	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	16
Tabela 8	Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	18
Tabela 9	Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	20
Tabela 1	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	33
Tabela 2	Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja	34

Tabela 3	Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	36
Tabela 4	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas	39
Tabela 1A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1	46
Tabela 2A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2	47

RESUMO

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2007. **Impacto do glyphosate sobre soja (*Glycine max* (L.) Merrill) transgênica e sua simbiose com *Bradyrhizobium spp.*** Orientador: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-orientador: Dr. Jamil Constantin.

Foi realizado um estudo envolvendo dois experimentos em casa de vegetação, com soja transgênica resistente ao herbicida glyphosate (RR), com o objetivo de determinar e quantificar efeitos do herbicida glyphosate sobre as plantas de soja e seu simbiote: *Bradyrhizobium spp.* O primeiro experimento foi realizado com 20 cultivares de soja RR e cinco modalidades de aplicação do herbicida glyphosate. O segundo experimento contou com duas cultivares de soja RR e seis modalidades de aplicação com os herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate. Em ambos os experimentos, foram avaliados massa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). No primeiro experimento, o glyphosate mostrou-se inibitório para todas as variáveis analisadas em pelo menos uma das cultivares testadas. A variável mais prejudicada pelas aplicações de glyphosate foi NN, posteriormente MSNT, MSSR e MSPA, com apenas seis das 20 cultivares testadas apresentando alguma redução. Os resultados sugerem que o efeito sobre MSSR é mais dependente da modalidade de aplicação do que da dose. O efeito dos tratamento sobre MSPA depende do grupo de maturação das cultivares e da modalidade de aplicação, sendo menos evidente sobre cultivares precoces e aplicações em dose única. MSNT e NN são dependentes do material genético e do grupo de maturação em questão. No segundo experimento, os herbicidas fluazifop e glyphosate causaram redução nas variáveis MSSR, MSNT e NN em apenas uma das cultivares testadas.

Palavras-chave: fixação biológica do N₂, herbicida, nodulação, Rhizobium

ABSTRACT

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, February, 2007. **Impact of glyphosate on glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp.** Adviser: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-adviser: Dr. Jamil Constantin.

A two-assay greenhouse study was conducted, with the objective of investigating and estimating the effects of the herbicide glyphosate both over glyphosate-resistant (GR) initial growth and over its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp. The first assay was conducted with 20 GR cultivars and five modalities of glyphosate application. The second one was composed by two cultivars of GR soybean and six combinations of herbicide application including the herbicides fluazifop, fomesafen and glyphosate. For both assays, evaluations included root, shoot and nodules dry weight and number of nodules per plant. Glyphosate inhibited all plant growth parameters for at least one of the cultivars evaluated in the first experiment. The most sensitive parameter to glyphosate injuries was the number of nodules, followed by nodule dry weight, root dry weight, and shoot dry weight, showing only six of the twenty cultivars with reductions for at least one modality of glyphosate application. Results lead to the conclusion that the effect of glyphosate on root dry weight depends more upon modality of application than upon the applied rate. The effect of treatments on shoot dry weight depends upon maturation group and modality of herbicide application, being less evident for precocious cultivars and single herbicide applications. Nodule dry weight and number of nodules depend upon genetics and group of maturation. In the second experiment, the herbicides glyphosate and fluazifop provide reductions of root and nodule dry weight, as well as number of nodules in only of the two cultivars evaluated.

Key words: biological nitrogen fixation, herbicide, nodulation, Rhizobium

INTRODUÇÃO

A soja é a cultura que ocupa a maior área plantada no Brasil e é uma das principais culturas do mundo. Atualmente, os líderes mundiais na produção de soja são os Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, Índia e Paraguai. Esta cultura ocupa importante papel socioeconômico no cenário mundial e está se desenvolvendo tecnologicamente cada vez mais, em busca de melhores resultados de produtividade e lucratividade. Com o advento de novas técnicas de biotecnologia, foram criados diversos organismos geneticamente modificados (OGM). Dentre eles está a soja transgênica, que desde 1996 é cultivada nos Estados Unidos e desde 1997 na Argentina. Atualmente, o Brasil e diversos outros países também empregam a mesma tecnologia.

Atualmente, há diversos tipos de sojas transgênicas em fase de desenvolvimento. A principal delas é uma planta que recebeu um gene de outro organismo capaz de torná-la tolerante ao uso do glyphosate (RR). Esse gene foi extraído de uma bactéria do solo, conhecida por *Agrobacterium sp.*, e patenteadado por uma empresa privada com o nome CP4-EPSPS. Estruturalmente, é muito parecido com os genes que compõem o genoma de uma planta. Após inserido no genoma da soja tornou-se uma planta resistente à aplicação do herbicida.

Por se tratar de uma tecnologia muito nova, há poucos trabalhos, no mundo e, principalmente, no Brasil que estudam as características dessas plantas e sua ecofisiologia. Portanto, é necessário que se saiba cada vez mais sobre seu desenvolvimento e sua relação com o ambiente em que ela está inserida, avaliando-se todos os aspectos relacionados ao seu cultivo.

Esse trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de soja RR sob diversas modalidades de aplicação de glyphosate e outros herbicidas usados no manejo de plantas daninhas na soja, com ênfase no desenvolvimento inicial das plantas e na nodulação por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR.

RESUMO. A soja resistente ao glyphosate (RR) é uma tecnologia que vem acrescentar mais uma ferramenta no manejo de plantas daninhas para a cultura com a maior área plantada em nosso país. Por se tratar de uma técnica muito recente tanto em nosso país quanto no mundo, necessitam-se de estudos que busquem informações úteis para o uso correto desta importante e cada vez mais freqüente prática agrícola: o cultivo de soja transgênica. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de glyphosate sobre 20 cultivares de soja RR. As doses utilizadas foram: Testemunha sem herbicida; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,54/0,36 kg equivalente ácido (EA) ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE); glyphosate em aplicação única de 0,72 kg EA ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,72/0,54 kg ha⁻¹, aos 12/24 DAE; glyphosate em aplicação única de 0,90 kg ha⁻¹, aos 24 DAE. Foram avaliadas as variáveis: matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). As cultivares que demonstraram maior suscetibilidade às aplicações de glyphosate foram: MSOY 8008 RR, ANTA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, CD 219 RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR e BRS 247 RR apresentando reduções de pelo menos três das quatro variáveis estudadas. BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 246 RR, CD 214 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e BRS 245 RR foram as mais tolerantes, pois não sofreram reduções significativas em nenhuma ou apenas em uma das variáveis avaliadas. De modo geral, a MSSR foi mais afetada pela modalidade de aplicação do que pela dose de glyphosate; por outro lado, a MSPA e a nodulação foram mais afetadas em cultivares de ciclo mais longo em relação às variedades de ciclo precoce. A nodulação também foi menos afetada pelo glyphosate em variedades do grupo BRS em relação aos demais materiais genéticos.

1 INTRODUÇÃO

Glyphosate é um herbicida não-seletivo, de amplo-espectro, aplicado em pós-emergência, que controla uma grande gama de plantas daninhas, tais como: plantas de folhas largas, folhas estreitas e ciperáceas (FRANZ et al., 1997). Esse herbicida inibe a síntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas e microrganismos que possuem o ciclo do ácido chiquímico (JAWORSKI, 1972; FISHER et al., 1986). O mecanismo de ação do glyphosate é quase exclusivo, uma vez que apenas ele e o sulfosate inibem especificamente a enzima EPSPS que catalisa a condensação do ácido chiquímico à fosfoenolpiruvato (OLIVEIRA JR., 2001).

Os efeitos tóxicos do glyphosate podem ser atribuídos à (1) incapacidade dos organismos sintetizarem aminoácidos aromáticos; (2) ao dreno energético no organismo resultante da fosfoenolpiruvato (PEP) que gasta no acúmulo do chiquimato, 3-deoxy-D-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP) e ácidos hidroxibenzóicos; e (3) toxicidade dos intermediários do ciclo do ácido chiquímico acumulados (FISHER et al., 1986).

Porém, nem todos os organismos respondem da mesma forma a esse e a outros herbicidas, como foi constatado por Kapusta e Rouwenhorst (1973), Alagavadi e Reddy (1986), Kishinevsky et al. (1988) e Delannay et al. (1995). Santos et al. (2004) estudaram os efeitos de formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,00026 mM do equivalente ácido (EA) e constataram diferenças entre as estirpes de rizóbios assim como entre as formulações de glyphosate. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Estudos desenvolvidos por Moorman et al. (1992) mostraram inibição diferencial de crescimento entre estirpes de *B. japonicum* expostas a doses de 0,5 mM de glyphosate e à inibição de todas as estirpes testadas quando a dose foi elevada para 5 mM.

Nos Estados Unidos, centenas de variedades de soja transgênica resistentes ao glyphosate (RR), de diferentes grupos de maturação, encontram-se disponíveis no mercado. Segundo Zablotowicz e Reddy (2004), as respostas fisiológicas dessas variedades às aplicações de glyphosate podem variar em função de fatores como localização geográfica, condições ambientais, tipos de solo, população de rizóbios e outros fatores.

Efeitos do glyphosate na nodulação de variedades RR foram amplamente estudados por Reddy et al. (2000) e King et al. (2001). Em ambos estudos, vários parâmetros relacionados à nodulação em soja RR foram significativamente reduzidos pela aplicação de doses de glyphosate; entretanto, os resultados foram inconsistentes entre os estudos. Os estudos de Reddy et al. (2000) avaliaram os efeitos das aplicações foliares de duas doses de glyphosate (sal de isopropilamina) sobre a nodulação. Os resultados mostraram redução do número de nódulos, massa de nódulos e conteúdo de leghemoglobina para a dose de 0,84 kg de EA ha⁻¹. Porém, para o dobro desta dose não foram encontradas diferenças entre as plantas tratadas com glyphosate e as não-tratadas. Num segundo estudo desenvolvido por Reddy et al. (2000), constatou-se que aplicações em estádios precoces de desenvolvimento da soja (V1 e V3) não causaram efeitos nos parâmetros de nodulação avaliados, independente da dose aplicada. Entretanto, a aplicação mais tardia de 1,68 kg EA ha⁻¹ (três semanas após a semeadura) reduziu o número de nódulos, massa de nódulos, conteúdo de leghemoglobina e nitrogênio total da parte aérea.

Nos estudos de King et al. (2001), aplicações precoces de glyphosate (1,26 kg de EA ha⁻¹) aos cinco e 12 dias, após a emergência (DAE) (V1 e V2, respectivamente) diminuíram significativamente o acúmulo de biomassa nos nódulos em comparação com a testemunha sem aplicação aos 19 DAE em um dos dois estudos, porém o conteúdo de nitrogênio na parte aérea foi reduzido em ambos os estudos, em 34 e 36%. Aplicações mais tardias, aos 18, 25 e 32 DAE, não afetaram a biomassa de nódulos.

Efeitos negativos sobre o crescimento do sistema radicular de soja transgênica RR também foram observados em vários experimentos em casa de vegetação tanto em plantas dependentes da fixação simbiótica quanto em

plantas nutridas com fertilizante nitrogenado (REDDY et al., 2000; KING et al., 2001).

Apesar de tudo, em diversas avaliações feitas a campo por autores como Delannay et al. (1995), Gonzini et al. (1999), Nelson e Renner (1999), Reddy e Whiting (2000), Elmore et al. (2001), Krausz e Young (2001) e Reddy (2001) não foram encontradas reduções de produtividade de grãos relacionada à aplicação de glyphosate sobre variedades de soja RR.

No Brasil, o plantio foi legalmente autorizado em setembro de 2003, pela Medida Provisória nº 131, que no mesmo ano foi convertida na Lei nº 10.184, de 15 de dezembro de 2003. No entanto, a liberação para cultivo e comercialização gerou e ainda gera polêmica. Apesar dos impasses legais, segundo o relatório anual de 2006 do Serviço Internacional para a Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia (ISAAA), no Brasil, a área plantada com soja transgênica na safra 2005/06 foi de 11,4 milhões de hectares, ocupando a terceira posição entre os países que mais cultivam transgênicos no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina. Atualmente, o Brasil conta com aproximadamente 90 variedades de soja RR, de várias empresas de sementes, disponíveis para plantio. Entretanto, poucos estudos sobre os efeitos do glyphosate sobre variedades RR cultivadas, no Brasil, foram desenvolvidos. Há, desta forma, uma lacuna de conhecimento a respeito do comportamento destas variedades em relação ao glyphosate.

Deste modo, esse estudo tem como objetivo avaliar, em condições de casa de vegetação, a influência do glyphosate sobre a nodulação e o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular em 20 variedades de soja transgênica RR cultivadas no país.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 19 de dezembro de 2005 a 25 de março de 2006.

No trabalho, foram avaliadas 19 variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes das regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil e uma proveniente da Argentina. As variedades utilizadas foram BRS 245 RR; MSOY 8151 RR; AL 83 TROPICAL RR; CD 214 RR; BRS 242 RR; BRS 244 RR; CD 219 RR; MSOY 8008 RR; ANTA RR; BRS 243 RR; MSOY 6001 RR; CRISTALINA RR; BRS 247 RR; MSOY 9000 RR; CD 213 RR; MSOY 8100 RR; VALIOSA RR; MSOY 8000 RR; BRS 246 RR; Não Identificada (NI). As cultivares, grupos de maturação e respectivas procedências são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência.

Variedade	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR
Grupo de maturação	Semiprecoce	Semitardio	Semitardio	Precoce	Precoce	Semiprecoce	Médio	Semitardio	-	Precoce
Procedência	Toledo PR	Goiânia GO	Rondonópolis MT	Toledo PR	Toledo PR	Toledo PR	Jataí GO	Goiânia GO	Ponta Grossa PR	Toledo PR
Variedade	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALIOSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI*
Grupo de maturação	Precoce	Tardio	Médio	Tardio	Precoce	Semitardio	Tardio	Semitardio	Semiprecoce	-
Procedência	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Ponta Grossa PR	Ponta Grossa PR	Adamantina SP	Goiânia GO	Toledo PR	Argentina

* NI: Obtida através de produtor rural que não soube informar de que variedade se tratava.
- Dados não-disponíveis.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 2. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3x10⁹ rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 2 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

Ph	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C	
CaCl ₂	H ₂ O	cmolc dm ⁻³					mg dm ⁻³		g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte		Argila			
g kg ⁻¹										
370		320			80		230			

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as 20 variedades de soja RR e cinco modalidades de aplicação de glyphosate. Os níveis das aplicações com glyphosate foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,54/0,36 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial I); aplicação única de glyphosate: 0,72 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) (dose única I); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,72/0,54 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial II); e

aplicação única de glyphosate: 0,90 kg EA ha⁻¹ (24 DAE) (dose única II). As doses das aplicações com glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate por hectare. A lista com as modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação de glyphosate e estádios de desenvolvimento da soja é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja.

Modalidade de aplicação	Dose em kg EA ha ⁻¹	Época de aplicação	Estádio da soja
Testemunha sem aplicação	-	-	-
Aplicação Sequencial I (SI)	0,54/0,36	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única I (DUI)	0,72	20 DAE	V4
Aplicação Sequencial II (SII)	0,72/0,54	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única II (DUII)	0,90	24 DAE	V5

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçados a 50 cm entre si, posicionada na altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião das aplicações, as condições de temperatura estavam entre 23 e 29°C, umidade relativa do ar entre 74 e 89%, solo úmido, velocidade do vento entre 5 e 10 km h⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estádio R3, as plantas foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C

até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foram avaliados matéria seca de parte aérea e do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000). Posteriormente, as cultivares foram agrupadas por materiais genéticos, grupos de maturação e modalidades de aplicação e submetidas a testes por contrastes. Os contrastes desenvolvidos foram:

$$\begin{aligned}\hat{C}_1 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} \\ &- \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000}; \\ \hat{C}_2 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} - 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_3 &= \hat{\mu}_{MSOY6001} + \hat{\mu}_{MSOY8000} + \hat{\mu}_{MSOY8008} + \hat{\mu}_{MSOY8100} + \hat{\mu}_{MSOY8151} + \hat{\mu}_{MSOY9000} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} \\ &- 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_4 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{CD213} + \hat{\mu}_{CD214} + \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{BRS247} - \\ &\hat{\mu}_{CD219} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} - \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000} - \hat{\mu}_{VALIOSA}; \\ \hat{C}_5 &= \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_6 &= \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_7 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_8 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_9 &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_{10} &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII};\end{aligned}$$

de modo que, \hat{C}_n é a estimativa do contraste e $\hat{\mu}$ é a média de cada tratamento.

As cultivares, as modalidades de aplicação e os respectivos contrastes formados estão mostrados na Tabela 4. O objetivo da comparação dos dados por contraste foi criar grupos com semelhanças entre si para facilitar a visualização dos efeitos das cultivares e dos tratamentos sobre as variáveis-resposta avaliadas.

Tabela 4 – Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação.

Contrastes			Componentes de cada grupo nos contrastes			
			Cultivares			
\hat{C}_1	Cultivares BRS	vs	Cultivares Monsoy	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR
\hat{C}_2	Cultivares BRS	vs	Cultivares CD	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_3	Cultivares Monsoy	vs	Cultivares CD	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_4	Cultivares precoces	vs	Cultivares não-precoces	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, CD 213 RR, CD 214 RR e MSOY 6001 RR	vs	BRS 247 RR, CD 219 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR e VALIOSA RR
Modalidades de aplicação						
\hat{C}_5	SI	vs	SII	0,54/0,36 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)	vs	0,72/0,54 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)
\hat{C}_6	DUI	vs	DUII	0,72 kg EA ha ⁻¹ (20 DAE)	vs	0,90 kg EA ha ⁻¹ (24 DAE)
\hat{C}_7	Seqüenciais	vs	Doses Únicas	SI e SII	vs	DUI e DUII
\hat{C}_8	Doses I	vs	Doses II	SI e DUI	vs	SII e DUII
\hat{C}_9	Testemunha	vs	Seqüenciais	Testemunha sem aplicação	vs	SI e SII
\hat{C}_{10}	Testemunha	vs	Doses Únicas	Testemunha sem aplicação	vs	DUI e DUII

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito de redução de matéria seca de nódulos totais (MSNT) acumulados (Tabela 5) em plantas das variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A variedade CRISTALINA RR teve sua MSNT afetada pelas duas modalidades de aplicação seqüencial (SI e SII) e pela dose única mais alta (DUII). A variedade CD 213 RR foi a que sofreu maior influência das aplicações de glyphosate em relação à testemunha. Para esta variedade, os tratamentos com dose maior (SII e DUII) reduziram em até 61,4% a MSNT, e os tratamentos com dose menor (SI e DUI) em até 35,8%. As variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram a MSNT reduzida em intensidade semelhante, em relação à testemunha, por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, DUI, SII e DUII), porém as aplicações herbicidas não diferiram entre si. As variedades BRS 245 RR, MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, BRS 247 RR, MSOY 9000 e BRS 246 RR não tiveram as suas respectivas MSNT afetadas por nenhuma das modalidades de aplicação quando comparadas com a testemunha.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença apenas na aplicação da maior dose única. As cultivares MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR e CD 213 RR apresentaram maior redução em relação às outras cultivares.

Jaworski (1972), Eberbach e Douglas (1989), Liu et al. (1991), Martensson (1992), Moorman et al. (1992), Hernandez et al. (1999), Reddy et al. (2000) encontraram efeitos de inibição de crescimento de rizóbios e nodulação em plantas de diversas espécies tratadas com glyphosate, cujos efeitos variaram de acordo com doses, espécies, e épocas de aplicação. Os resultados encontrados no presente trabalho se assemelham a esses resultados, e sugerem que as respostas às aplicações não são uniformes em relação aos materiais testados nem com relação à modalidade de aplicação.

Tabela 5 – Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca de Nódulos Totais Acumulados (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{3/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	83,7aA	89,6aA	72,1aA	85,1aA	78,8aA	79,1aA	82,7bA	73,1bA	78,2bA	82,0aA	74,9bA	70,7bA	77,3aA	85,2aA	72,2bA	66,0bA	71,4bA	70,4bA	74,3aA	71,9bA
DUI ^{6/}	78,1aA	80,9aA	90,3aA	92,4aA	66,9aA	73,5aA	70,6bA	81,5bA	62,3bA	84,5aA	69,3bA	86,6aA	81,3aA	91,0aA	64,2bA	71,1bA	70,9bA	72,5bA	86,6aA	73,6bA
SII ^{7/}	89,2aA	83,2aA	80,1aA	77,0aA	78,7aA	81,2aA	70,3bA	71,5bA	69,2bA	86,8aA	68,8bA	70,2bA	73,2aA	85,6aA	49,0cA	66,1bA	67,7bA	68,2bA	88,5aA	71,7bA
DUII ^{8/}	76,6aA	84,5aA	76,0aA	83,0aA	83,0aA	81,7aA	71,3bA	61,6bB	67,5bA	86,3aA	57,0bB	74,2bA	82,8aA	78,8aA	38,6cB	72,5bA	73,2bA	69,0bA	89,9aA	69,3bA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Bohrer e Hungria (1998) correlacionaram MSNT com a quantidade de nitrogênio total da parte aérea e encontraram correlações elevadas e significativas. Uma vez que o nitrogênio total obtido pela parte aérea das plantas é determinante na produtividade de grãos e no teor de proteínas dos mesmos e que este nitrogênio provém basicamente da atividade dos nódulos, é possível inferir que os resultados ora apresentados possam contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

O número de nódulos acumulados por vaso (NN) (Tabela 6) foi reduzido pelas quatro modalidades de aplicação em intensidade semelhante em relação às respectivas testemunhas para as cultivares AL 83 TROPICAL, CD 214 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A cultivar CD 213 RR foi a mais afetada pelas aplicações nesta variável, apresentando reduções de até 68,1% para as modalidades de aplicação com dose maior (SII e DUII), 39,8% para DUI e 28,3% para SI. BRS 242 RR apresentou redução em todas as modalidades de aplicação, com exceção da DUII. Uma hipótese para essa resposta diferencial para a dose única maior pode ser a diferença de quatro dias em relação à aplicação da DUI.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença nas aplicações com dose única (DUI e DUII) e na aplicação seqüencial com dose maior (SII). Na aplicação com dose única menor (DUI), as cultivares BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI apresentaram maior redução do número de nódulos em relação às outras cultivares. Na aplicação seqüencial com dose maior (SII), as cultivares CD 214 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram maior redução em relação às outras cultivares para esta variável. Para aplicação com dose única maior (DUII), formaram-se três grupos. As cultivares AL 83 TROPICAL RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8100 RR e MSOY 8000 RR formaram o grupo intermediário de redução para esta variável. Apresentando menor redução de número de nódulos em relação às cultivares CD 213 RR e NI e maior redução desta variável em relação às demais cultivares.

Tabela 6 – Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIETADE MA ^{3/}	Número de Nódulos Acumulados (%) ^{1/}																			
	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	82,6aA	80,8aA	67,1bA	74,3bA	79,5bA	72,3bA	74,5bA	66,5bA	68,1bA	75,6aA	76,1bA	67,9bA	67,1bA	81,0aA	71,7bA	56,5bA	69,1bA	59,9bA	68,6aA	65,2bA
DUI ^{6/}	79,3aA	79,7aA	80,2bA	82,3bA	74,0bA	72,3bB	70,2bB	71,7bB	60,8bB	83,6aA	63,2bB	79,8bA	77,9bA	82,4aA	60,2cB	64,4bB	60,9bB	60,2bB	92,2aA	63,6bB
SII ^{7/}	87,1aA	78,7aA	73,0bA	68,1bB	75,1bA	79,2bA	62,4bB	63,0bB	62,5bB	90,9aA	65,3bB	71,0bB	68,9bB	82,4aA	42,1dB	57,1bB	68,4bB	61,5bB	84,6aA	62,2bB
DUII ^{8/}	78,6aA	84,3aA	62,2bB	73,9bA	97,0aA	79,6bA	63,6bB	52,9bB	65,3bB	80,4aA	60,2bB	73,2bA	75,2bA	67,5aB	31,9dC	63,5bB	70,7bA	63,4bB	84,5aA	47,7bC

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Estudos realizados por Reddy et al. (2000) encontraram redução do número de nódulos em soja convencional tratadas com doses subletais de glyphosate e soja RR tratadas com doses de glyphosate variando de 1,12 a 2,24 kg EA ha⁻¹. Porém, estes efeitos variaram de acordo com época de aplicação e dose. Estes efeitos não se repetiram em trabalho realizado por Reddy e Zablotowicz (2003), os quais encontraram redução do acúmulo de matéria seca de nódulos sem que houvesse redução no número de nódulos acumulados em cultivares de soja RR tratadas com aplicações de 0,84 kg EA ha⁻¹ de vários saís de glyphosate.

A matéria seca do sistema radicular (MSSR) (Tabela 7) foi afetada por pelo menos uma das modalidades de aplicação de glyphosate nas variedades BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR e MSOY 8100 RR. A variedade ANTA RR teve a MSSR reduzida pelas duas modalidades de aplicação em dose única (DUI e DUII) em até 28,2% em relação à testemunha. A variedade MSOY 8100 RR apresentou redução (32,4%) de MSSR apenas na aplicação seqüencial com dose maior de glyphosate (SII). A cultivar CRISTALINA RR apresentou reduções de até 23,1% para ambas as aplicações seqüenciais (SI e SII). As cultivares BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR tiveram a MSSR reduzida em intensidade semelhante por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, SII, DUI e DUII) quando comparadas com suas respectivas testemunhas. As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246, VALIOSA e NI não tiveram MSSR afetada por nenhuma das modalidades de aplicação com glyphosate.

Comparando as cultivares, observa-se que as cultivares BRS 245 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR foram mais afetadas que as demais nas aplicações SII e DUII. A cultivar MSOY 8100 foi mais afetada que as demais, apenas na modalidade de aplicação seqüencial maior (SII). As cultivares CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR e VALIOSA RR tiveram a MSSR mais reduzida que as demais variedades apenas na modalidade de aplicação com dose única maior (DUII). As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246 RR e NI apresentaram produção de MSSR semelhantes entre si e superior em relação às demais cultivares.

Tabela 7 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca do Sistema Radicular (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	77,9bA	81,0aA	81,9aA	96,3aA	78,5aA	77,4aA	79,2aA	80,9bA	88,1aA	91,0aA	73,7Ba	85,1bA	65,8bA	89,6aA	71,3bA	86,4aA	89,2aA	84,2aA	91,1aA	81,9aA
DUI ^{6/}	84,9bA	88,9aA	96,7aA	95,4aA	80,1aA	88,7aA	84,3aA	87,0bA	73,9bA	91,1aA	79,1Ba	98,2aA	78,1bA	90,0aA	77,9bA	83,0aA	82,8aA	81,7aA	89,2aA	93,3aA
SII ^{7/}	69,6bB	87,7aA	94,6aA	87,7aA	86,6aA	83,6aA	82,1aA	77,0bA	86,6aA	87,9aA	78,7bA	76,9bA	59,5bB	89,0aA	62,7bB	67,6bB	81,7aA	79,2aA	89,1aA	85,6aA
DUII ^{8/}	73,6bB	90,4aA	85,8aA	93,9aA	86,0aA	88,3aA	80,7aB	76,7bB	71,8bB	92,4aA	65,7bB	90,5aA	71,0bB	90,6aA	74,2bB	89,2aA	77,7aB	86,6aA	95,0aA	84,2aA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Esses resultados concordam com os encontrados por King et al. (2001), quando estudaram o crescimento e a atividade da nitrogenase em diversas cultivares de soja RR e encontraram diferentes respostas das cultivares para a variável MSSR, ora diminuindo o acúmulo de matéria seca ora mantendo-o. Por outro lado, Reddy e Zablotowicz (2003) encontraram resultados que diferem dos obtidos neste trabalho e constataram a recuperação da planta tratada por glyphosate 14 dias após a aplicação, equiparando sua MSSR com a da testemunha sem herbicida.

Em relação ao acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 8), pouco se observou de redução significativa das modalidades de aplicação em relação às respectivas testemunhas. De modo geral, as modalidades de aplicação de glyphosate tiveram menor efeito sobre a MSPA do que sobre a MSSR. Reduções significativas da MSPA ocorreram nas cultivares MSOY 8008 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR, as quais foram afetadas pelas quatro modalidades de aplicação de glyphosate em intensidades semelhantes em relação às suas respectivas testemunhas sem aplicação. E nas cultivares CD 213 RR e AL 83 TROPICAL RR que apresentaram redução nas modalidades de aplicação SI, SII e DUII para a primeira cultivar e SI e DUII, para a segunda cultivar, respectivamente. Comparações entre as cultivares não apresentaram diferença significativa para nenhuma das modalidades de aplicação. King et al. (2001) testaram o efeito do glyphosate sobre plantas totalmente dependentes da nodulação para obtenção de nitrogênio e plantas supridas com nitrogênio mineral. Observou-se decréscimo na biomassa da parte aérea das plantas supridas ou não com nitrogênio. Esse fato sugere possível efeito direto negativo do glyphosate sobre a produção de matéria seca da parte aérea sem que a redução na nodulação seja a principal responsável por este decréscimo. Isto demonstra que os resultados obtidos no presente trabalho, apesar de terem sido observados em apenas seis das 20 cultivares testadas, já foram constatados por outros autores. Reddy et al. (2000) também encontraram diminuição da matéria seca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular de plantas de soja RR tratadas com glyphosate em comparação com a testemunha

Tabela 8 – Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIEDADE MA ^{3/}		Matéria Seca da Parte Aérea (%) ^{1/}																			
		BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	89,4aA	87,7aA	81,1bA	92,0aA	89,9aA	80,6aA	84,5aA	82,9bA	100,0aA	94,4aA	77,7aA	79,0bA	78,9bA	88,6aA	88,1bA	83,5aA	83,2bA	84,5aA	88,6aA	89,8aA	
DUI ^{6/}	88,1aA	87,9aA	99,3aA	94,0aA	85,7aA	91,0aA	83,4aA	79,8bA	94,7aA	96,7aA	89,5aA	88,8bA	85,1bA	90,2aA	97,8aA	90,5aA	78,8bA	87,3aA	93,5aA	95,0aA	
SII ^{7/}	85,9aA	88,1aA	95,1aA	87,2aA	93,5aA	90,8aA	82,4aA	84,5bA	89,0aA	90,9aA	90,8aA	85,5bA	80,6bA	87,6aA	84,9bA	84,9aA	81,2bA	85,7aA	91,5aA	89,2aA	
DUII ^{8/}	85,4aA	89,1aA	85,0bA	88,1aA	94,3aA	86,1aA	86,0aA	74,5bA	93,1aA	92,4aA	84,9aA	79,7bA	87,4bA	86,2aA	79,9bA	90,3aA	87,2bA	81,9aA	91,0aA	84,6aA	

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

sem herbicida, no entanto, esses resultados só foram possíveis com o dobro da dose máxima utilizada no presente trabalho, mostrando assim a existência de um potencial de injúria que o glyphosate pode ter sobre plantas de soja RR tratadas com doses maiores. Uma hipótese para as reduções ocorridas no acúmulo de MSPA e MSSR é processo de degradação do glyphosate dentro da planta, que resulta na formação de um determinado subproduto, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004).

CD 219 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR e VALIOSA RR apresentaram redução de três das quatro variáveis avaliadas em pelo uma das quatro modalidades de aplicação de glyphosate, quando comparadas à testemunha. No entanto, não foi encontrado, entre as cultivares um padrão de redução em relação às modalidades de aplicação, já que a cultivar ANTA RR teve a MSSR afetada apenas pelas aplicações em dose única (DUI e DUII). Por outro lado, MSOY 8100 teve redução da mesma variável apenas na modalidade de aplicação SII, demonstrando que cada cultivar responde de forma diferente às aplicações de glyphosate. Em MSOY 6001 RR, as quatro modalidades de aplicação causaram redução em relação à testemunha nas três variáveis citadas (MSNT, MSSR e NN), apresentando desta forma mais um padrão de resposta em relação aos tratamentos.

Segundo os resultados obtidos, podemos agrupar as cultivares em três grupos segundo a tolerância às aplicações de glyphosate. As cultivares BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e CD 214 RR apresentaram redução de nenhuma ou de apenas uma das variáveis comparadas com suas respectivas testemunhas, sugerindo ser um grupo de maior tolerância às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação testadas neste experimento. As cultivares ANTA RR, CRISTALINA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, CD 213 RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR foram as mais afetadas pelas aplicações de glyphosate, sendo que pelo menos três das quatro variáveis analisadas (MSNT, MSSR, MSPA, NN) foram reduzidas por pelo menos uma das modalidades de aplicação, indicando se tratar de um grupo menos tolerante às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação

testadas nesse experimento. O grupo de tolerância intermediária conta com apenas quatro cultivares: AL 83 TROPICAL, CD 219 RR, MSOY 8000 RR e NI.

Os testes com contrastes permitiram classificar os efeitos das modalidades de aplicação e das cultivares sobre as variáveis-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN) estudadas (Tabela 9).

Tabela 9 – Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Contrastes		MSSR		MSPA		MSNT		NN	
Coeficientes Θ	Coeficientes Θ	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f
Cultivares BRS	vs Cultivares Monsoy	-0,24	0,87	+2,43	0,08	+5,05	0,01	+8,80	<0,01
Cultivares BRS	vs Cultivares CD	+0,16	0,93	+1,30	0,44	+7,70	<0,01	+11,85	<0,01
Cultivares Monsoy	vs Cultivares CD	+0,40	0,83	+1,13	0,50	-2,65	0,29	-3,04	0,22
Cultivares precoces	vs Cultivares não-precoces	+0,99	0,46	+3,45	<0,01	+1,15	0,51	+4,49	0,01
SI	vs SII	+1,86	0,33	-1,25	0,45	+2,11	0,40	+1,03	0,67
DUI	vs DUII	+3,04	0,11	+3,39	0,04	+3,56	0,15	+4,16	0,09
Seqüenciais	vs Doses Únicas	-3,13*	0,02	-1,20	0,31	+0,25	0,88	-0,16	0,92
Doses I	vs Doses II	+2,45	0,07	+1,07	0,37	+2,83	0,11	+2,59	0,13
Testemunha	vs Seqüenciais	+18,40	<0,01	+13,16	<0,01	+24,12	<0,01	+29,30	<0,01
Testemunha	vs Doses Únicas	+15,26	<0,01	+11,95	<0,01	+24,38	<0,01	+29,13	<0,01

* As estimativas apresentadas em negrito são significativas pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os contrastes feitos entre modalidades de aplicação seqüenciais *versus* testemunha e doses únicas *versus* testemunha foram os únicos significativos para todas as variáveis-resposta analisadas. Em ambos os casos, houve superioridade das médias da testemunha em relação às modalidades de aplicação para as quatro variáveis estudadas (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Isto

sugere efeito de redução das variáveis-resposta quando submetidas às modalidades de aplicação analisadas por este experimento em relação à testemunha sem aplicação.

As comparações feitas entre os contrastes estabelecidos demonstraram diferença significativa para a MSSR apenas no contraste feito entre as aplicações seqüenciais e aplicações com dose única e os contrastes entre testemunha e modalidades de aplicação. Isto demonstra resposta melhor desta variável para as aplicações em dose única. Desta forma, essa variável-resposta depende mais da modalidade de aplicação do que das doses de glyphosate testadas, material genético ou grupo de maturação. Isto possivelmente se deve ao fato da maior capacidade de metabolização do glyphosate e seus subprodutos em aplicação em dose única. Segundo Monquero (2003), diversos trabalhos demonstram as vantagens de aplicação seqüencial de glyphosate em relação a uma única aplicação sobre o controle de plantas daninhas de difícil controle, cujo fato sugere que o grau de injúria nas plantas é maior nas aplicações seqüenciais em relação à aplicação única, o que pode ser aplicado também aos resultados obtidos para soja RR, nesse trabalho, em relação à MSSR.

Para MSPA, os contrastes que apresentaram significância foram grupos de maturação e comparação entre doses únicas, além dos citados anteriormente, sugerindo que a MSPA é dependente do grupo de maturação das cultivares de soja, e se tratadas com aplicações em doses únicas respondem melhor às doses menores. Uma possível explicação para este fato poderia ser a grande dependência da soja em relação ao ambiente em que está inserida, uma vez que a planta depende de fatores como temperatura e fotoperíodo para que seu desenvolvimento e floração sejam satisfatórios (EMBRAPA, 2006).

A variável MSNT demonstrou uma forte dependência do material genético da cultivar em questão, já que nenhum outro grupo testado pelos contrastes, além dos contrastes entre testemunhas e modalidades de aplicação, apresentou diferença significativa, demonstrando superioridade de acúmulo de MSNT nas cultivares BRS testadas em relação às cultivares MONSOY e CD. A importância do genótipo da soja para o bom desempenho do processo da fixação biológica do N₂ já havia sido ressaltada desde os

primeiros ensaios conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; ARRUDA, 1967). Segundo Bohrer e Hungria (1998), na ausência de uma avaliação contínua das características relacionadas à fixação do N₂, nos programas de melhoramento, pode ocorrer perdas genéticas em relação à capacidade simbiótica.

O número de nódulos (NN) foi afetado por dois dos fatores testados, além das modalidades de aplicação em relação à testemunha. Um dos fatores foi o mesmo que influencia a MSNT, ou seja, o material genético das cultivares em questão. O segundo fator (grupo de maturação) apresentou as cultivares precoces como mais favoráveis ao acúmulo de NN. Uma possível hipótese para esta superioridade do grupo precoce em relação ao não-precoce pode estar relacionada ao período de início de formação dos nódulos. Nas precoces, esse período, possivelmente, é menor que nas não-precoces, e, portanto, influenciado pelas aplicações mais tardias (2^{as} aplicações seqüenciais e as duas aplicações em dose única).

Tais informações são de grande importância, pois associam cada parte do desenvolvimento da planta (variáveis-resposta) a uma determinada fonte de variação. Desta forma, é possível inferir qual fonte de variação (material genético, grupo de maturação ou modalidades de aplicação) interfere numa determinada variável-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Tal análise permite inferências que podem contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

De modo geral, MSSR é independente do grupo de cultivar, variando segundo a modalidade de aplicação de glyphosate. MSPA apresenta uma tendência de melhor desempenho para as cultivares precoces em relação às cultivares não-precoces. E em caso de uso de aplicação em dose única, as doses menores causaram menores reduções nessa variável. Em MSNT e NN, observa-se um efeito evidente do material genético em questão, e o grupo de cultivares BRS apresentou melhor desempenho de nodulação em relação aos demais grupos, após aplicações de glyphosate. Além disso, as cultivares mais precoces tendem a nodular em maior número quando expostas às situações ora apresentadas.

Todas as doses e modalidades de aplicação de glyphosate causaram redução em todas as variáveis avaliadas. Os efeitos do glyphosate sobre a soja RR são dependentes de fatores como: variedade, grupo de maturação, época de aplicação e dose.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, 20(6):27-30, 1986.

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS,C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, 35:1461-1467, 1995.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:475-487, 1967.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, 119:15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, 93:408-412, 2001.

EMBRAPA. Exigências Climáticas. In: EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2007**. Londrina: Embrapa, 2006. 217 p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FISHER, R.S.; BERRY, A.; GAINES, C.G.; JENSEN, R.A. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in Eubacteria. **Journal of Bacteriology**, 168:1147–1154, 1986.

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

GONZINI, L.C.; HART, S.E.; WAX, L.M. Herbicide combinations for weed management in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, 13:354–360, 1999.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 47:2920-2925, 1999.

JAWORSKI, E.G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: Inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 20:1195-1198, 1972.

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, 65:112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, 28:291-296, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to trimethylsulfonium and isopropylamine salts of glyphosate. **Weed Technology**, 15:745–749, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, 57:1799-1804, 1991.

MARTENSSON, A.M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biology Biochemistry**, 24:435-445, 1992.

MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 99 p. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia).

MOORMAN, T.B.; BECERRIL, J.M.; LYDON, J.; DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 40:289-293, 1992.

NELSON, K.A.; RENNER, K.A. Weed management in wide- and narrow-row glyphosate resistant soybean. **Journal of Production Agriculture**, 12:460–465, 1999.

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

REDDY, K.N. Weed management in transgenic soybean resistant to glyphosate under conventional tillage and no-tillage systems. **Journal of New Seeds**, 3:27–40, 2001.

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

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

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, 14:204–211, 2000.

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

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

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, 33:825-831, 2004.

CAPÍTULO II

EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR

RESUMO. A principal fonte de nitrogênio para nutrição da planta é proveniente da fixação biológica do nitrogênio promovida pelas bactérias simbiotes *Bradyrhizobium spp.* presentes nas raízes da cultura, constituindo desta forma importantes instrumentos no desenvolvimento e produtividade de soja. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de herbicidas sobre duas cultivares de soja RR, BRS 245 RR e BRS 247 RR, organizados num arranjo fatorial 6 x 2 com sete repetições. Os seis níveis de aplicação de herbicida foram: testemunha sem herbicida, fomesafen em aplicação seqüencial de 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE), fomesafen/[fomesafen+fluazifop] em aplicação seqüencial de 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 DAE, fluazifop em aplicação única de 0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,540/0,360 kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹ e glyphosate em aplicação única de 0,720 kg EA ha⁻¹ aos 12/24 DAE e 20 DAE, respectivamente. Foram avaliadas as variáveis matéria seca do sistema radicular, matéria seca da parte aérea, matéria seca dos nódulos acumulados e número de nódulos acumulados. A cultivar BRS 247 RR foi afetada negativamente pelos tratamentos com glyphosate em aplicação única, e pelos tratamentos com fluazifop. A cultivar BRS 245 RR mostrou-se mais tolerante às aplicações dos herbicidas não apresentando redução em nenhuma das variáveis analisadas.

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada pela simbiose com bactérias da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* ou ambas (HUNGRIA et al., 1999), em soja. Os nódulos radiculares, centros de fixação, assimilação e exportação do nitrogênio fixado são formados após as bactérias entrarem em contato e penetrarem nas raízes da planta hospedeira, via células radiculares pilosas ou outras células epidérmicas. Após a penetração, formam-se os fios ou cordões de infecção que atingem o córtex da raiz, subdividem-se e se associam a pequenos grupos de células que darão origem aos nódulos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Quanto ao desenvolvimento da nodulação em campo, estudos indicam o aparecimento, na primeira semana após a emergência, de quatro a oito primeiros nódulos na coroa da raiz. Na segunda semana, a fixação biológica do nitrogênio já está ocorrendo (HUNGRIA et al., 1999) e continuará durante todo o ciclo da planta, atingindo seu ponto máximo no estágio de floração plena e declinando, a partir do enchimento das sementes.

Avanços na biotecnologia resultaram na criação de cultivares de soja resistentes ao glyphosate (RR), proporcionando uma opção eficaz de amplo espectro de controle pós-emergente de plantas daninhas. Glyphosate inibe a 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), uma enzima da rota do chiquimato que leva à síntese dos aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano (DUKE, 1988). As cultivares de soja RR contêm a enzima EPSPS proveniente de *Agrobacterium* sp. (PADGETTE et al., 1995) que são resistentes ao glyphosate. Apesar disso, os simbiossiontes fixadores de N₂ presentes nas raízes da soja, *Bradyrhizobium* spp., contêm a forma sensível desta enzima (JAWORSKI, 1972; MOORMAN et al., 1992).

Segundo Marenco et al. (1993) e Santos et al. (2004), a aplicação de herbicidas sobre culturas que realizam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico pode prejudicar a eficiência na assimilação desse nutriente. Tais prejuízos devem-se à interferência do herbicida no metabolismo do microsimbionte, na planta hospedeira ou em ambos, quando em

associação (ARRUDA et al., 2001). Aplicações de herbicidas, dependendo da dose, mecanismo de ação, presença de microrganismos e sua sensibilidade destes aos princípios ativos, podem trazer conseqüências indesejáveis para a microbiota (ROYUELA et al., 1998). Segundo Santos et al. (2006), acredita-se que a maior interferência desses compostos ocorre quando eles agem sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns entre microrganismos e plantas.

A sensibilidade do *Bradyrhizobium spp.* ao glyphosate é influenciada pela concentração do herbicida e pela estirpe da bactéria (KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004). Em alguns países, constatou-se que o glyphosate provocou intoxicação em estirpes de rizóbios ou prejudicou a nodulação de soja (MALLIK; TESFAI, 1985; MOORMAN et al., 1992; HERNANDEZ et al., 1999; KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004; MALTY et al., 2006). Moorman et al. (1992) aplicaram doses de 0,5 mM de glyphosate em *B. japonicum* e encontraram inibição diferencial de crescimento entre as estirpes testadas e completa inibição de todas elas quando expostas à dose de 5 mM. Santos et al. (2004) testaram as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,26 mM do equivalente ácido de glyphosate, e constataram diferenças de crescimento entre as estirpes de rizóbios e formulações utilizadas no experimento. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Malty et al. (2006) também demonstraram efeito inibitório do glyphosate ao crescimento de *Bradyrhizobium spp.* em meio de cultura, e esse efeito foi crescente com o aumento das concentrações aplicadas, tendo também variado em razão das estirpes avaliadas. Foi constatado que concentrações iguais a 0,21 mM de glyphosate inibem 50% do crescimento (DI_{50}) da estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* BR 86 e concentrações iguais a 0,45 mM inibem 100% do crescimento de todas as estirpes de rizóbios testadas.

King et al. (2001) encontraram diferença de resultados entre as cultivares RR tratadas com glyphosate, E o efeito inibitório da nodulação variou em razão das cultivares testadas, o que sugere que há variabilidade na sensibilidade em função do material genético avaliado.

Trabalhos anteriores demonstram que em concentrações extremamente baixas (menores que 0,1 mM), o glyphosate pode ser benéfico ao desenvolvimento de certas estirpes de rizóbios, demonstrando resposta quadrática negativa na análise de regressão em relação à dose aplicada (EBERBACH; DOUGLAS, 1989). Maly et al. (2006) demonstraram que doses da ordem de 0,089 mM de Roundup (360 g L⁻¹, do equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate) proporcionaram maior desenvolvimento dos rizóbios da estirpe BR 86 em relação à testemunha sem herbicida, porém estas concentrações são menores do que as encontradas nas raízes e nódulos de plantas tratadas com doses comerciais de glyphosate, criando portanto, falsa idéia de que o glyphosate possa estimular a nodulação na planta em condições normais de cultivo. Em trabalho desenvolvido por Honegger et al. (1986), observou-se que com aplicações de glyphosate de apenas 0,5 kg EA ha⁻¹ foram encontradas concentrações acima de 0,3 mM em tecidos do sistema radicular de plantas suscetíveis. Doses maiores ou aplicações repetidas podem resultar em concentrações mais elevadas, especialmente em fortes drenos de metabólitos como é o caso dos nódulos das raízes de soja quando comparados com o sistema radicular das mesmas (MCWHORTER et al., 1980). Isto sugere a possibilidade de serem encontradas condições de grande potencial inibitório do sistema radicular e principalmente dos nódulos radiculares das plantas de soja tratadas com glyphosate por ocasião do manejo de plantas daninhas presentes na cultura.

Liu et al. (1991) também observaram efeito inibitório do glyphosate em meio de cultura, para a estirpe RM1021 de *Rhizobium meliloti*, em concentrações maiores que 1 mM. Hernandez et al. (1999) observaram inibição de crescimento que variou de 17 a 53% entre as três estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* testadas sob a concentração de 0,03 mM de glyphosate, cuja concentração é muito inferior às encontradas em raízes, nódulos e outros drenos (HONEGGER et al., 1986).

Algumas hipóteses que podem explicar o efeito supressivo sobre a produtividade de grãos em cultivares com genes inseridos provenientes de outro organismo são enumeradas por Elmore et al. (2001a): (1) processo de inserção do gene que confere a resistência ao glyphosate, (2) diferenciais genéticos entre cultivares, (3) glyphosate (efeito do herbicida) e (4) efeitos

relacionados ao seu metabolismo na planta, acarretando sub-mecanismos de ação causados por subprodutos, como o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004). Esses fatores podem causar efeito direto do glyphosate sobre as bactérias simbiotes, tais como: inibição de crescimento e redução da biomassa dos nódulos e diminuição do conteúdo de clorofila e leghemoglobina na planta (REDDY et al., 2000). Redução de produtividade de grãos da ordem de 5% em cultivares RR foi constatada em trabalho desenvolvido por Elmore et al. (2001b), quando compararam linhagens irmãs com e sem inserção do gene RR. Também têm sido observados efeitos secundários, como redução do conteúdo de clorofila e crescimento da planta (KRAUSZ; YOUNG, 2001; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004), provavelmente em virtude do efeito tóxico do metabólito AMPA proveniente da degradação do herbicida.

Em trabalho desenvolvido por Reddy et al. (2004), constatou-se que o AMPA não afeta os níveis de chiquimato, tanto em soja RR quanto em soja convencional, mostrando que seu mecanismo de ação difere do glyphosate. A fitotoxicidade do AMPA para a soja fica evidente em virtude do efeito de redução do conteúdo de clorofila e da matéria seca da parte aérea, constatados por meio de aplicações desta fitotoxina em soja RR em doses que variam de 0 a 8 kg i.a. ha⁻¹. Tais aplicações resultaram na redução do conteúdo de clorofila em até 66% e de matéria seca da parte aérea em até 39%.

Assim como o glyphosate, outros herbicidas pré e pós-emergentes podem afetar a nodulação de leguminosas. Wichert e Talbert (1993) observaram que o fluazifop-p-butil, dois dias após a sua aplicação, já estava presente nas raízes tanto na forma ativa quanto metabolizado. Santos et al. (2006) estudaram os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e a mistura deles sobre duas estirpes de *Rhizobium tropici* e constataram que a mistura comercial entre os dois herbicidas causou maior inibição de crescimento das colônias de bactérias de uma das duas estirpes testadas. Quando o fluazifop-p-butil foi adicionado em diferentes concentrações ao meio de cultura, as estirpes avaliadas não apresentaram sensibilidade diferencial em relação ao crescimento. Mesmo na maior concentração testada (0,29 mM), o número de colônias formadas foi semelhante ao observado na testemunha. Entretanto, com o aumento da concentração do fomesafen, isolado ou em mistura com

fluazifop-p-butil, observou-se inibição do crescimento das colônias de bactérias ao longo do período de avaliação. Para o fomesafen isolado, as reduções foram menores, porém mais expressivas para uma das estirpes em relação à outra. Procópio et al. (2004) observaram que os herbicidas imazethapyr e fomesafen, aplicados em meio YM para o crescimento de *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019), reduziram em mais de 40% o crescimento dessa estirpe.

Apesar dos efeitos nocivos do fomesafen às bactérias quando em contato direto, esse herbicida tem pouca ou nenhuma translocação na planta (OLIVEIRA JR., 2001), uma vez que não se move pelo floema (VIDAL, 2002). Desta forma, espera-se que não deve atingir os nódulos na forma ativa. Porém, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conta disso, entrar em contato com o sistema radicular e conseqüentemente com os nódulos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate sobre a nodulação e acúmulo de biomassa em duas cultivares de soja RR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542m de altitude, segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 10 de dezembro de 2005 a 08 de março de 2006. Foram utilizadas duas variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes da Embrapa Soja em Londrina: BRS 245 RR e BRS 247 RR.

A cultivar BRS 245 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação semi-precoce, com ciclo total de 123 a 143 dias e é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É originada do cruzamento das linhagens BRS 133 e E96-246. A cultivar BRS 247 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação médio, com ciclo total de 124 a 145 dias, é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É proveniente do cruzamento das linhagens BRS 134, Embrapa 59 e E96-246.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 1. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3×10^9 rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as

plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 1 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

pH		Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C
CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³			g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte			Argila		
g kg ⁻¹										
370		320			80			230		

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá - PR.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as duas variedades de soja RR e seis modalidades de aplicação (MA) de herbicidas. Os níveis das MA com herbicida foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de fomesafen: 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen + fluazifop-p-butyl]: 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação única de fluazifop-p-butyl: 0,125 kg i.a. ha⁻¹ (20 DAE); aplicação única de glyphosate: 0,720 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) e aplicação seqüencial de glyphosate: 0,540/0,360 kg EA ha⁻¹ (12/24 DAE).

As doses dos herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butyl estão em kg de ingrediente ativo por hectare e as doses de glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfonometil) glicina – glyphosate por hectare. Foi adicionado Energic à calda de pulverização na concentração de 0,2% (v/v) nas aplicações com os herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butyl, de acordo com a recomendação do fabricante. Os dados referentes aos herbicidas, doses, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja (FEHR; CAVINESS, 1971) são mostradas na Tabela 2.

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçadas a 50 cm entre si, posicionada na

altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião da aplicação de 12 DAE, a temperatura estava a 25°C, umidade relativa do ar (U.R.%) em 72%, solo úmido, velocidade do vento de 5 km⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade, para aplicação de 20 DAE a temperatura era de 21°C, U.R.% = 81%, solo úmido, velocidade do vento de 1 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas; para aplicação de 24 DAE a temperatura era de 28°C, U.R.% = 70%, solo úmido, velocidade do vento de 8 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Tabela 2 – Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja.

MA ^{1/} /Herbicida	Dose ^{2/}	Época de aplicação	Estádio da Soja
Testemunha	-	-	-
Seqüencial de Fomesafen ^{3/}	0,125/0,125	12/24 DAE	V3/V5
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil] ^{4/}	0,125/[0,125+0,125]	12/24 DAE	V3/V5
Dose Única de Fluazifop-p-butil ^{5/}	0,125	20 DAE	V4
Dose Única de Glyphosate ^{6/}	0,720	20 DAE	V4
Seqüencial de Glyphosate ^{6/}	0,540/0,360	12/24 DAE	V3/V5

^{1/} MA: Modalidade de aplicação

^{2/} Doses de Fomesafen e Fluazifop-p-butil em kg i.a. ha⁻¹/Doses de Glyphosate em kg EA ha⁻¹

^{3/} Produto comercial Flex

^{4/} Produto comercial Fusiflex

^{5/} Produto comercial Fusilade

^{6/} Produto comercial Roundup Transorb

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estágio R3, as plantas de soja foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foi avaliada matéria seca de parte aérea, do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do arranjo fatorial, foram analisados os efeitos isolados de modalidades de aplicação dos herbicidas e os desdobramentos da interação entre as modalidades de aplicação e as cultivares.

Os resultados do efeito isolado das modalidades de aplicação dos herbicidas mostraram influência sobre as variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN), os quais são mostrados na Tabela 3. A variável MSSR foi afetada negativamente pelos tratamentos com dose única de fluazifop e glyphosate apresentando reduções de 14,55 e 9,94%, respectivamente, para esses tratamentos.

Tabela 3 – Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Modalidade de Aplicação/Herbicida	MSSR	MSPA	MSNT	NN
Testemunha	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
Seqüencial de Fomesafen	95,37 a	95,84 a	90,21 a	87,09 b
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,48 a	94,99 a	88,92 a	82,54 b
Dose Única de Fluazifop-p-butil	85,45 b	93,63 a	72,11 b	71,78 b
Dose Única de Glyphosate	90,06 b	89,66 a	76,15 b	72,88 b
Seqüencial de Glyphosate	93,94 a	95,86 a	87,77 a	83,92 b

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

A aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop] não reduziu significativamente a MSSR, ao passo que a dose única de fluazifop reduziu esta variável. Esperava-se que o efeito de redução causado pelo fluazifop no tratamento com aplicação única se repetisse no tratamento com aplicação

seqüencial junto com fomesafen, o que não aconteceu. Uma possibilidade para isso é que as formulações dos herbicidas podem influenciar nos efeitos causados pelos mesmos. Malkones (2000) inferiu que os aditivos presentes na formulação dos agroquímicos podem afetar os microrganismos e, em certos casos, até modificar o efeito dos agroquímicos. Segundo Kishinevsky et al. (1988), é possível que solventes, surfatantes e agentes molhantes presentes nas formulações comerciais de herbicidas contribuam para os efeitos inibitórios desses produtos no crescimento de estirpes de rizóbios. Além disso, a última aplicação seqüencial de [fomesafen+ fluazifop] foi realizada quatro dias mais tarde do que a aplicação de fluazifop em dose única, o que pode ter levado ao incremento na tolerância ou na capacidade de metabolização das plantas.

Já, o fato da aplicação seqüencial de glyphosate não ter causado redução significativa na MSSR pode estar associado tanto às épocas de aplicação quanto às doses de glyphosate, como encontrado por Reddy e Zablutowicz (2003) em trabalho realizado com glyphosate, onde as épocas de aplicação influenciaram nas variáveis estudadas. A variável matéria seca da parte aérea (MSPA) não foi influenciada significativamente por nenhuma das modalidades de aplicação com herbicidas. Este fato demonstra a esperada seletividade dos herbicidas em relação à planta, porém isto não os isenta dos efeitos causados nas outras variáveis.

Os mesmos dois tratamentos que causaram redução na MSSR também diminuíram a MSNT. Essa redução foi de 27,89 e 23,85% para fluazifop e glyphosate, respectivamente. Da mesma forma, as aplicações seqüenciais que contêm esses dois ingredientes ativos não causaram redução nessa variável. A hipótese levantada para a MSSR é igualmente aplicável para explicar os resultados encontrados para esta MSNT.

O número de nódulos acumulados (NN) foi reduzido em todos os tratamentos com herbicidas em relação à testemunha sem aplicação. As reduções variaram entre 12,81 e 28,22% para fomesafen em dose única e fluazifop em dose única, respectivamente. A resposta desta variável aos tratamentos diferiu das respostas encontradas para as outras duas variáveis afetadas significativamente.

Herbicidas como o fluazifop e o glyphosate possuem ação sistêmica nas plantas, isto é, quando aplicados à parte aérea das mesmas podem se

translocar até as raízes. Tais herbicidas e seus metabólitos podem, portanto, entrar em contato direto com os simbiontes da raiz. Embora não haja relatos sobre a toxicidade de fluazifop em relação a esses organismos, inúmeros autores (KAPUSTA; ROUWENHORST, 1973; ALAGAVADI; REDDY, 1986; KISHINEVSKY et al., 1988; DELANNAY et al., 1995; REDDY et al., 2004) descreveram o efeito tóxico sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio, o que pode ter sido a causa da redução do número de nódulos nos tratamentos que continham esses herbicidas. O fomesafen é considerado um herbicida de contato (OLIVEIRA JR., 2001; VIDAL, 2002), sendo de pouca ou nenhuma mobilidade. No entanto, mesmo não havendo translocação significativa deste herbicida para o sistema radicular, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conseqüência, entrar em contato com o sistema radicular ou diretamente com os nódulos. Esta possibilidade é reforçada pelo fato de que a toxicidade do fomesafen para espécies de rizóbios já foi demonstrada por testes *in vitro* (SANTOS et al., 2006).

O fato de ter havido redução no número de nódulos e não ter ocorrido o mesmo para MSNT no tratamento com glyphosate em aplicação seqüencial explica-se pela época de aplicação do produto. De forma que a aplicação de 0,54 kg EA ha⁻¹ de glyphosate aos 12 DAE reduziu a quantidade de nódulos formados nesta primeira etapa da nodulação, ao passo que a segunda aplicação de glyphosate foi menos nociva à nodulação, já que a dose foi menor (0,36 kg EA ha⁻¹), permitindo desta forma que a planta compensasse a quantidade de nódulos não-formados na primeira etapa com nódulos de maior massa individual nessa segunda etapa de formação.

Ao analisar o desdobramento da interação entre as cultivares e modalidades de aplicação de herbicidas (Tabela 4), pode-se observar fatos específicos de relevância.

A única diferença significativa entre as cultivares foi encontrada para matéria seca do sistema radicular na aplicação de dose única de fluazifop, para a qual a cultivar BRS 245 RR demonstrou maior tolerância em relação à cultivar BRS 247 RR.

A cultivar BRS 247 RR teve a matéria seca do sistema radicular reduzida apenas pela aplicação em dose única de fluazifop. A matéria seca dos nódulos acumulados foi reduzida pelas duas aplicações em dose única, tanto

de fluazifop, quanto de glyphosate. O número de nódulos foi reduzido pelas duas aplicações que continham fluazifop, além da aplicação em dose única de glyphosate. A cultivar BRS 245 RR não teve redução em nenhuma das variáveis analisadas por nenhuma das modalidades de aplicação.

Tabela 4 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas.

Modalidade de aplicação/ Herbicida	MSSR		MSPA		MSNT		NN	
	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR
	%							
Testemunha	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA
Seqüencial de Fomesafen	91,29aA	99,44aA	98,27aA	93,41aA	86,88aA	93,55aA	86,49aA	87,69aA
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,94aA	92,01aA	95,15aA	94,83aA	88,44aA	89,40aA	80,55bA	84,53aA
Dose Única de Fluazifop-p-butil	80,44bB	90,46aA	93,10aA	94,17aA	73,71bA	70,51aA	75,28bA	68,27aA
Dose Única de Glyphosate	89,57aA	90,55aA	88,15aA	91,16aA	70,96bA	81,34aA	65,04bA	80,72aA
Seqüencial de Glyphosate	91,62aA	96,25aA	96,19aA	95,52aA	88,32aA	87,21aA	87,53aA	80,30aA

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas linhas (para uma mesma variável-resposta) não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de significância

Os resultados demonstram que existe diferença entre as cultivares em relação às aplicações. A cultivar BRS 247 RR é menos tolerante aos tratamentos aqui apresentados do que a cultivar BRS 245 RR. A modalidade de aplicação e a dose de ingrediente ativo são importantes fatores no efeito causado pelos herbicidas sobre a nodulação e desenvolvimento da planta. A variável número de nódulos foi a mais afetada pelos tratamentos. A variável matéria seca da parte aérea não foi reduzida por nenhum dos tratamentos em nenhuma das cultivares.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, v. 20, p. 27-30, 1986.

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

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS, C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, v. 35, p. 1461-1467, 1995.

DUKE, S.O. Glyphosate. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1988. p.1-70.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, v. 119, p. 15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 404-407, 2001a.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 408-412, 2001b.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

HONEGGER, J.L.; BROOKS, J.M.; ANDERSON, E.J.; PORTER, C.A.. Glyphosate transport in plants. In: CRONSHAW, J. (Ed.) **Phloem transport**. New York: Liss, 1986. p.609-618.

HUNGRIA, M; CAMPOS, R.J.; VARGAS, M.A.T.; CATTELAN, A.J.; MENDES, I.C. Microbiologia do solo e produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa, 1999. p.126-137.

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

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, v. 65, p. 112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, v. 28, p. 291-196, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of double-crop glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to broadleaf herbicides. **Weed Technology**, v. 15, p. 300-305, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect of soybean-rhizobia symbiosis. **Plant Soil**, v. 85, p. 33-41, 1985.

MALKONES, H.P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities - a review. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 8, n. 5, p. 781-789, 2000.

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

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

McWHORTER, C.G.; JORDAN, T.N.; WILLS, G.D. Translocation of 14C-glyphosate in soybean (*Glycine max*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, v. 28, p. 113-118, 1980.

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

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

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

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS J.B.; JACQUES, R.J.S.; KASUYA, M.C.M.; SILVA, A.A.; WERLANG, R.C. Crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium* sob influência dos herbicidas glyphosate potássico, fomesafen, imazethapyr e carfentrazone-ethyl. **Revista Ceres**, v. 51, n. 294, p. 179-188, 2004.

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**, v. 2, p. 37-52, 2000.

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

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

ROYUELA, M.; GONZALEZ, A.; ARRESE-IGOR, C.; APARICIO-TEJO, P.M.; GONZALEZ-MURUA, C. Imazethapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with pea. **Pesticide Science**, v. 52, p. 372-380, 1998.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VIDAL, R.A. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: **Ação dos herbicidas: absorção, translocação, e metabolização**. Porto Alegre: Evangraf, 2002. p.60-70.

WICHERT, R.A.; TALBERT, R.E. Soybean [*Glycine max* (L.)] response to lactofen. **Weed Science**, v. 41, p. 23-27, 1993.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

CONCLUSÕES

- O herbicida glyphosate causou reduções de matéria seca da parte aérea, matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- O herbicida fluazifop e a mistura [fluazifop+fomesafen] causaram redução de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- As variáveis-resposta analisadas são dependentes de diferentes fatores presentes neste trabalho.
- As cultivares têm reações diferenciadas entre si para as diferentes modalidades de aplicação utilizadas neste trabalho.
- As modalidades de aplicação causam diferentes efeitos dentro de uma mesma cultivar de soja.
- Mesmo que não haja danos visuais na parte aérea das plantas pode ocorrer perda de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e redução no número de nódulos.
- Cultivares de ciclo precoce apresentaram maior número de nódulos.
- Cultivares BRS apresentaram melhores resultados de nodulação.

APÊNDICE

Tabela 1A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	19	1000,09**	307,96 ^{ns}	1315,60**	1832,28**
Modalidade de Aplicação (MA)	4	8502,58**	4696,36**	16773,11**	24227,46**
Cv x MA	76	214,33 ^{ns}	100,62 ^{ns}	293,45 ^{ns}	391,66 ^{ns}
Cv/Test	19	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/SI	19	386,11 ^{ns}	226,46 ^{ns}	271,66 ^{ns}	338,51 ^{ns}
Cv/DUI	19	326,30 ^{ns}	210,12 ^{ns}	588,82 ^{ns}	646,38**
Cv/SII	19	620,91**	108,64 ^{ns}	657,34 ^{ns}	941,60**
Cv/DUII	19	524,09**	165,20 ^{ns}	971,58**	1472,43**
MA/BRS245 RR	4	997,46**	247,44 ^{ns}	634,42 ^{ns}	538,28 ^{ns}
MA/MSOY8151 RR	4	326,09 ^{ns}	197,16 ^{ns}	405,72 ^{ns}	544,22 ^{ns}
MA/AL83TROPICAL RR	4	406,97 ^{ns}	515,72**	903,62 ^{ns}	1524,08**
MA/CD214 RR	4	141,65 ^{ns}	186,27 ^{ns}	554,78 ^{ns}	1077,35**
MA/BRS242 RR	4	502,02 ^{ns}	197,40 ^{ns}	1000,76 ^{ns}	1082,09**
MA/BRS244 RR	4	483,78 ^{ns}	358,82 ^{ns}	697,89 ^{ns}	905,25**
MA/CD219 RR	4	499,26 ^{ns}	367,14 ^{ns}	1158,01**	1631,73**
MA/MSOY8008 RR	4	659,32**	639,89**	1450,88**	2191,80**
MA/ANTA RR	4	926,53**	155,04 ^{ns}	1550,50**	1851,00**
MA/BRS243 RR	4	143,38 ^{ns}	90,17 ^{ns}	344,01 ^{ns}	638,03 ^{ns}
MA/MSOY6001 RR	4	1128,68**	471,49 ^{ns}	1778,37**	1854,63**
MA/CRISTALINA RR	4	650,96**	510,74**	1154,12**	1154,51**
MA/BRS247 RR	4	1703,50**	485,87**	737,11 ^{ns}	1210,00**
MA/MSOY9000 RR	4	148,17 ^{ns}	211,22 ^{ns}	438,05 ^{ns}	934,10 ^{ns}
MA/CD213 RR	4	1352,89**	461,10**	3897,22**	4964,87**
MA/MSOY8100 RR	4	966,61**	296,45 ^{ns}	1411,96**	2288,76**
MA/VALIOSA RR	4	532,58 ^{ns}	489,76**	1221,49**	1599,76**
MA/MSOY8000 RR	4	460,80 ^{ns}	348,46 ^{ns}	1276,54**	2114,36**
MA/BRS246 RR	4	150,35 ^{ns}	131,16 ^{ns}	588,90 ^{ns}	944,08 ^{ns}
MA/NI	4	393,90 ^{ns}	246,74 ^{ns}	1144,26**	2620,12**
Blocos	6	1535,81	2681,93	11535,51	37445,05
Resíduo	594	257,95	200,86	445,61	431,95
Total	699				
CV(%)		18,56	15,76	26,19	27,12
Média Geral		86,53	89,95	80,59	76,62

**Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	1	304,91**	1,80 ^{ns}	109,30 ^{ns}	25,42 ^{ns}
Modalidade de Aplicação (MA)	5	339,56**	159,27 ^{ns}	1442,56**	1498,30**
Cv x MA	5	72,29 ^{ns}	23,72 ^{ns}	93,91 ^{ns}	250,13 ^{ns}
Cv/1	1	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/2	1	232,96 ^{ns}	82,66 ^{ns}	155,77 ^{ns}	4,99 ^{ns}
Cv/3	1	3,03 ^{ns}	0,35 ^{ns}	3,25 ^{ns}	55,44 ^{ns}
Cv/4	1	352,10**	4,05 ^{ns}	36,03 ^{ns}	172,13 ^{ns}
Cv/5	1	3,35 ^{ns}	31,77 ^{ns}	376,48 ^{ns}	860,20 ^{ns}
Cv/6	1	74,39 ^{ns}	1,56 ^{ns}	4,31 ^{ns}	183,31 ^{ns}
MA/BRS245 RR	5	133,43 ^{ns}	60,36 ^{ns}	730,53 ^{ns}	756,98 ^{ns}
MA/BRS247 RR	5	278,42**	122,63 ^{ns}	805,33**	991,45**
Blocos	6	105,13	190,61	455,60	559,32
Resíduo	66	70,96	67,19	293,31	338,84
Total	83				
CV(%)		9,07	8,63	19,95	22,17
Média Geral		92,88	94,99	85,86	83,03

1= Testemunha sem aplicação

2= Aplicação seqüencial de fomesafen/fomesafen

3= Aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop]

4= Aplicação em dose única de fluazifop

5= Aplicação em dose única de glyphosate

6= Aplicação seqüencial de glyphosate/glyphosate

** Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO –2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

APROVADA em 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Jamil Constantin

Prof. Dr. Robinson Luiz Contiero

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior
(Orientador)

Aos meus amados pais que me deram condições para chegar até aqui; sempre me apoiaram e fizeram de mim o que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo que está na Terra, Deus. Muito obrigado, oh! Pai por permitir que eu alcançasse este objetivo, por ter-me dado forças, perseverança e a certeza de que eu conseguiria, pois estou ao Seu lado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela imprescindível ajuda financeira.

Ao meu orientador, um obrigado mais que especial, Professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., que, honra como poucos o papel de professor e mestre; ajudou-me, apoiou-me, orientou-me, decepcionou-se e empolgou-se com fracassos e sucessos sempre ao meu lado, dando-me a garantia intelectual de que conseguiríamos.

Aos Professores Dr. Jamil Constantin, Dr. Carlos Alberto Scapim e Dr. Alessandro de Lucca e Braccini, pelo apoio e sugestões que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

À equipe de servidores do Laboratório de Plantas Daninhas – UEM – Maringá – PR., pois sem ela este trabalho não seria possível.

Aos colegas e amigos de Pós-graduação, pelo companheirismo e pela contribuição para meu crescimento intelectual.

Ao Luís Machado Homem e Milton Lopes da Silva por ajudarem sempre nos trabalhos a campo.

Aos verdadeiros amigos: Éder Blainski, Éverton Blainski, Rachel Muylaert Locks Guimarães e Sidnei Douglas Cavalieri pelo apoio e pelo ombro amigo nos momentos difíceis.

À minha família, em especial ao meu pai e minha mãe pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À minha querida namorada e amiga Márcia Maria Parente Santini, sempre presente, apoiando-me, incentivando-me e dando força nos momentos difíceis.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma cooperaram para o planejamento e execução deste trabalho.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN, filho de José Dvoranen e Amália Regina Dvoranen, nasceu na cidade de Marialva, Paraná, aos nove dias do mês de junho de 1980.

Em 2000, matriculou-se no Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Iniciou, no ano seguinte, com a participação em trabalhos de pesquisa com Plantas Daninhas, na orientação dos Professores Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. e Dr. Jamil Constantin.

Graduou-se em março de 2005 e no mesmo mês iniciou o Curso de Pós-graduação em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá – Maringá - PR.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	2
INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR	2
Resumo	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 MATERIAL E MÉTODOS	6
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	26
EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR.	26
Resumo	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	40
CONCLUSÕES	44
APÊNDICE	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência ...	6
Tabela 2	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	7
Tabela 3	Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha ⁻¹ , épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja	8
Tabela 4	Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação	10
Tabela 5	Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	12
Tabela 6	Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	14
Tabela 7	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	16
Tabela 8	Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	18
Tabela 9	Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	20
Tabela 1	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	33
Tabela 2	Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja	34

Tabela 3	Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	36
Tabela 4	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas	39
Tabela 1A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1	46
Tabela 2A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2	47

RESUMO

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2007. **Impacto do glyphosate sobre soja (*Glycine max* (L.) Merrill) transgênica e sua simbiose com *Bradyrhizobium spp.*** Orientador: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-orientador: Dr. Jamil Constantin.

Foi realizado um estudo envolvendo dois experimentos em casa de vegetação, com soja transgênica resistente ao herbicida glyphosate (RR), com o objetivo de determinar e quantificar efeitos do herbicida glyphosate sobre as plantas de soja e seu simbionte: *Bradyrhizobium spp.* O primeiro experimento foi realizado com 20 cultivares de soja RR e cinco modalidades de aplicação do herbicida glyphosate. O segundo experimento contou com duas cultivares de soja RR e seis modalidades de aplicação com os herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate. Em ambos os experimentos, foram avaliados massa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). No primeiro experimento, o glyphosate mostrou-se inibitório para todas as variáveis analisadas em pelo menos uma das cultivares testadas. A variável mais prejudicada pelas aplicações de glyphosate foi NN, posteriormente MSNT, MSSR e MSPA, com apenas seis das 20 cultivares testadas apresentando alguma redução. Os resultados sugerem que o efeito sobre MSSR é mais dependente da modalidade de aplicação do que da dose. O efeito dos tratamento sobre MSPA depende do grupo de maturação das cultivares e da modalidade de aplicação, sendo menos evidente sobre cultivares precoces e aplicações em dose única. MSNT e NN são dependentes do material genético e do grupo de maturação em questão. No segundo experimento, os herbicidas fluazifop e glyphosate causaram redução nas variáveis MSSR, MSNT e NN em apenas uma das cultivares testadas.

Palavras-chave: fixação biológica do N₂, herbicida, nodulação, Rhizobium

ABSTRACT

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, February, 2007. **Impact of glyphosate on glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp.** Adviser: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-adviser: Dr. Jamil Constantin.

A two-assay greenhouse study was conducted, with the objective of investigating and estimating the effects of the herbicide glyphosate both over glyphosate-resistant (GR) initial growth and over its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp. The first assay was conducted with 20 GR cultivars and five modalities of glyphosate application. The second one was composed by two cultivars of GR soybean and six combinations of herbicide application including the herbicides fluazifop, fomesafen and glyphosate. For both assays, evaluations included root, shoot and nodules dry weight and number of nodules per plant. Glyphosate inhibited all plant growth parameters for at least one of the cultivars evaluated in the first experiment. The most sensitive parameter to glyphosate injuries was the number of nodules, followed by nodule dry weight, root dry weight, and shoot dry weight, showing only six of the twenty cultivars with reductions for at least one modality of glyphosate application. Results lead to the conclusion that the effect of glyphosate on root dry weight depends more upon modality of application than upon the applied rate. The effect of treatments on shoot dry weight depends upon maturation group and modality of herbicide application, being less evident for precocious cultivars and single herbicide applications. Nodule dry weight and number of nodules depend upon genetics and group of maturation. In the second experiment, the herbicides glyphosate and fluazifop provide reductions of root and nodule dry weight, as well as number of nodules in only of the two cultivars evaluated.

Key words: biological nitrogen fixation, herbicide, nodulation, Rhizobium

INTRODUÇÃO

A soja é a cultura que ocupa a maior área plantada no Brasil e é uma das principais culturas do mundo. Atualmente, os líderes mundiais na produção de soja são os Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, Índia e Paraguai. Esta cultura ocupa importante papel socioeconômico no cenário mundial e está se desenvolvendo tecnologicamente cada vez mais, em busca de melhores resultados de produtividade e lucratividade. Com o advento de novas técnicas de biotecnologia, foram criados diversos organismos geneticamente modificados (OGM). Dentre eles está a soja transgênica, que desde 1996 é cultivada nos Estados Unidos e desde 1997 na Argentina. Atualmente, o Brasil e diversos outros países também empregam a mesma tecnologia.

Atualmente, há diversos tipos de sojas transgênicas em fase de desenvolvimento. A principal delas é uma planta que recebeu um gene de outro organismo capaz de torná-la tolerante ao uso do glyphosate (RR). Esse gene foi extraído de uma bactéria do solo, conhecida por *Agrobacterium sp.*, e patenteadado por uma empresa privada com o nome CP4-EPSPS. Estruturalmente, é muito parecido com os genes que compõem o genoma de uma planta. Após inserido no genoma da soja tornou-se uma planta resistente à aplicação do herbicida.

Por se tratar de uma tecnologia muito nova, há poucos trabalhos, no mundo e, principalmente, no Brasil que estudam as características dessas plantas e sua ecofisiologia. Portanto, é necessário que se saiba cada vez mais sobre seu desenvolvimento e sua relação com o ambiente em que ela está inserida, avaliando-se todos os aspectos relacionados ao seu cultivo.

Esse trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de soja RR sob diversas modalidades de aplicação de glyphosate e outros herbicidas usados no manejo de plantas daninhas na soja, com ênfase no desenvolvimento inicial das plantas e na nodulação por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR.

RESUMO. A soja resistente ao glyphosate (RR) é uma tecnologia que vem acrescentar mais uma ferramenta no manejo de plantas daninhas para a cultura com a maior área plantada em nosso país. Por se tratar de uma técnica muito recente tanto em nosso país quanto no mundo, necessitam-se de estudos que busquem informações úteis para o uso correto desta importante e cada vez mais freqüente prática agrícola: o cultivo de soja transgênica. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de glyphosate sobre 20 cultivares de soja RR. As doses utilizadas foram: Testemunha sem herbicida; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,54/0,36 kg equivalente ácido (EA) ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE); glyphosate em aplicação única de 0,72 kg EA ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,72/0,54 kg ha⁻¹, aos 12/24 DAE; glyphosate em aplicação única de 0,90 kg ha⁻¹, aos 24 DAE. Foram avaliadas as variáveis: matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). As cultivares que demonstraram maior suscetibilidade às aplicações de glyphosate foram: MSOY 8008 RR, ANTA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, CD 219 RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR e BRS 247 RR apresentando reduções de pelo menos três das quatro variáveis estudadas. BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 246 RR, CD 214 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e BRS 245 RR foram as mais tolerantes, pois não sofreram reduções significativas em nenhuma ou apenas em uma das variáveis avaliadas. De modo geral, a MSSR foi mais afetada pela modalidade de aplicação do que pela dose de glyphosate; por outro lado, a MSPA e a nodulação foram mais afetadas em cultivares de ciclo mais longo em relação às variedades de ciclo precoce. A nodulação também foi menos afetada pelo glyphosate em variedades do grupo BRS em relação aos demais materiais genéticos.

1 INTRODUÇÃO

Glyphosate é um herbicida não-seletivo, de amplo-espectro, aplicado em pós-emergência, que controla uma grande gama de plantas daninhas, tais como: plantas de folhas largas, folhas estreitas e ciperáceas (FRANZ et al., 1997). Esse herbicida inibe a síntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas e microrganismos que possuem o ciclo do ácido chiquímico (JAWORSKI, 1972; FISHER et al., 1986). O mecanismo de ação do glyphosate é quase exclusivo, uma vez que apenas ele e o sulfosate inibem especificamente a enzima EPSPS que catalisa a condensação do ácido chiquímico à fosfoenolpiruvato (OLIVEIRA JR., 2001).

Os efeitos tóxicos do glyphosate podem ser atribuídos à (1) incapacidade dos organismos sintetizarem aminoácidos aromáticos; (2) ao dreno energético no organismo resultante da fosfoenolpiruvato (PEP) que gasta no acúmulo do chiquimato, 3-deoxy-D-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP) e ácidos hidroxibenzóicos; e (3) toxicidade dos intermediários do ciclo do ácido chiquímico acumulados (FISHER et al., 1986).

Porém, nem todos os organismos respondem da mesma forma a esse e a outros herbicidas, como foi constatado por Kapusta e Rouwenhorst (1973), Alagavadi e Reddy (1986), Kishinevsky et al. (1988) e Delannay et al. (1995). Santos et al. (2004) estudaram os efeitos de formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,00026 mM do equivalente ácido (EA) e constataram diferenças entre as estirpes de rizóbios assim como entre as formulações de glyphosate. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Estudos desenvolvidos por Moorman et al. (1992) mostraram inibição diferencial de crescimento entre estirpes de *B. japonicum* expostas a doses de 0,5 mM de glyphosate e à inibição de todas as estirpes testadas quando a dose foi elevada para 5 mM.

Nos Estados Unidos, centenas de variedades de soja transgênica resistentes ao glyphosate (RR), de diferentes grupos de maturação, encontram-se disponíveis no mercado. Segundo Zablotowicz e Reddy (2004), as respostas fisiológicas dessas variedades às aplicações de glyphosate podem variar em função de fatores como localização geográfica, condições ambientais, tipos de solo, população de rizóbios e outros fatores.

Efeitos do glyphosate na nodulação de variedades RR foram amplamente estudados por Reddy et al. (2000) e King et al. (2001). Em ambos estudos, vários parâmetros relacionados à nodulação em soja RR foram significativamente reduzidos pela aplicação de doses de glyphosate; entretanto, os resultados foram inconsistentes entre os estudos. Os estudos de Reddy et al. (2000) avaliaram os efeitos das aplicações foliares de duas doses de glyphosate (sal de isopropilamina) sobre a nodulação. Os resultados mostraram redução do número de nódulos, massa de nódulos e conteúdo de leghemoglobina para a dose de 0,84 kg de EA ha⁻¹. Porém, para o dobro desta dose não foram encontradas diferenças entre as plantas tratadas com glyphosate e as não-tratadas. Num segundo estudo desenvolvido por Reddy et al. (2000), constatou-se que aplicações em estádios precoces de desenvolvimento da soja (V1 e V3) não causaram efeitos nos parâmetros de nodulação avaliados, independente da dose aplicada. Entretanto, a aplicação mais tardia de 1,68 kg EA ha⁻¹ (três semanas após a semeadura) reduziu o número de nódulos, massa de nódulos, conteúdo de leghemoglobina e nitrogênio total da parte aérea.

Nos estudos de King et al. (2001), aplicações precoces de glyphosate (1,26 kg de EA ha⁻¹) aos cinco e 12 dias, após a emergência (DAE) (V1 e V2, respectivamente) diminuíram significativamente o acúmulo de biomassa nos nódulos em comparação com a testemunha sem aplicação aos 19 DAE em um dos dois estudos, porém o conteúdo de nitrogênio na parte aérea foi reduzido em ambos os estudos, em 34 e 36%. Aplicações mais tardias, aos 18, 25 e 32 DAE, não afetaram a biomassa de nódulos.

Efeitos negativos sobre o crescimento do sistema radicular de soja transgênica RR também foram observados em vários experimentos em casa de vegetação tanto em plantas dependentes da fixação simbiótica quanto em

plantas nutridas com fertilizante nitrogenado (REDDY et al., 2000; KING et al., 2001).

Apesar de tudo, em diversas avaliações feitas a campo por autores como Delannay et al. (1995), Gonzini et al. (1999), Nelson e Renner (1999), Reddy e Whiting (2000), Elmore et al. (2001), Krausz e Young (2001) e Reddy (2001) não foram encontradas reduções de produtividade de grãos relacionada à aplicação de glyphosate sobre variedades de soja RR.

No Brasil, o plantio foi legalmente autorizado em setembro de 2003, pela Medida Provisória nº 131, que no mesmo ano foi convertida na Lei nº 10.184, de 15 de dezembro de 2003. No entanto, a liberação para cultivo e comercialização gerou e ainda gera polêmica. Apesar dos impasses legais, segundo o relatório anual de 2006 do Serviço Internacional para a Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia (ISAAA), no Brasil, a área plantada com soja transgênica na safra 2005/06 foi de 11,4 milhões de hectares, ocupando a terceira posição entre os países que mais cultivam transgênicos no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina. Atualmente, o Brasil conta com aproximadamente 90 variedades de soja RR, de várias empresas de sementes, disponíveis para plantio. Entretanto, poucos estudos sobre os efeitos do glyphosate sobre variedades RR cultivadas, no Brasil, foram desenvolvidos. Há, desta forma, uma lacuna de conhecimento a respeito do comportamento destas variedades em relação ao glyphosate.

Deste modo, esse estudo tem como objetivo avaliar, em condições de casa de vegetação, a influência do glyphosate sobre a nodulação e o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular em 20 variedades de soja transgênica RR cultivadas no país.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 19 de dezembro de 2005 a 25 de março de 2006.

No trabalho, foram avaliadas 19 variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes das regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil e uma proveniente da Argentina. As variedades utilizadas foram BRS 245 RR; MSOY 8151 RR; AL 83 TROPICAL RR; CD 214 RR; BRS 242 RR; BRS 244 RR; CD 219 RR; MSOY 8008 RR; ANTA RR; BRS 243 RR; MSOY 6001 RR; CRISTALINA RR; BRS 247 RR; MSOY 9000 RR; CD 213 RR; MSOY 8100 RR; VALIOSA RR; MSOY 8000 RR; BRS 246 RR; Não Identificada (NI). As cultivares, grupos de maturação e respectivas procedências são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência.

Variedade	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR
Grupo de maturação	Semiprecoce	Semitardio	Semitardio	Precoce	Precoce	Semiprecoce	Médio	Semitardio	-	Precoce
Procedência	Toledo PR	Goiânia GO	Rondonópolis MT	Toledo PR	Toledo PR	Toledo PR	Jataí GO	Goiânia GO	Ponta Grossa PR	Toledo PR
Variedade	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALIOSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI*
Grupo de maturação	Precoce	Tardio	Médio	Tardio	Precoce	Semitardio	Tardio	Semitardio	Semiprecoce	-
Procedência	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Ponta Grossa PR	Ponta Grossa PR	Adamantina SP	Goiânia GO	Toledo PR	Argentina

* NI: Obtida através de produtor rural que não soube informar de que variedade se tratava.
- Dados não-disponíveis.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 2. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3x10⁹ rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 2 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

Ph	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C	
CaCl ₂	H ₂ O	cmolc dm ⁻³						mg dm ⁻³	g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte		Argila			
g kg ⁻¹										
370		320			80		230			

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as 20 variedades de soja RR e cinco modalidades de aplicação de glyphosate. Os níveis das aplicações com glyphosate foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,54/0,36 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial I); aplicação única de glyphosate: 0,72 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) (dose única I); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,72/0,54 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial II); e

aplicação única de glyphosate: 0,90 kg EA ha⁻¹ (24 DAE) (dose única II). As doses das aplicações com glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate por hectare. A lista com as modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação de glyphosate e estádios de desenvolvimento da soja é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja.

Modalidade de aplicação	Dose em kg EA ha ⁻¹	Época de aplicação	Estádio da soja
Testemunha sem aplicação	-	-	-
Aplicação Sequencial I (SI)	0,54/0,36	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única I (DUI)	0,72	20 DAE	V4
Aplicação Sequencial II (SII)	0,72/0,54	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única II (DUII)	0,90	24 DAE	V5

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçados a 50 cm entre si, posicionada na altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião das aplicações, as condições de temperatura estavam entre 23 e 29°C, umidade relativa do ar entre 74 e 89%, solo úmido, velocidade do vento entre 5 e 10 km h⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estádio R3, as plantas foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C

até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foram avaliados matéria seca de parte aérea e do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000). Posteriormente, as cultivares foram agrupadas por materiais genéticos, grupos de maturação e modalidades de aplicação e submetidas a testes por contrastes. Os contrastes desenvolvidos foram:

$$\begin{aligned}\hat{C}_1 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} \\ &- \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000}; \\ \hat{C}_2 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} - 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_3 &= \hat{\mu}_{MSOY6001} + \hat{\mu}_{MSOY8000} + \hat{\mu}_{MSOY8008} + \hat{\mu}_{MSOY8100} + \hat{\mu}_{MSOY8151} + \hat{\mu}_{MSOY9000} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} \\ &- 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_4 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{CD213} + \hat{\mu}_{CD214} + \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{BRS247} - \\ &\hat{\mu}_{CD219} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} - \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000} - \hat{\mu}_{VALIOSA}; \\ \hat{C}_5 &= \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_6 &= \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_7 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_8 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_9 &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_{10} &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII};\end{aligned}$$

de modo que, \hat{C}_n é a estimativa do contraste e $\hat{\mu}$ é a média de cada tratamento.

As cultivares, as modalidades de aplicação e os respectivos contrastes formados estão mostrados na Tabela 4. O objetivo da comparação dos dados por contraste foi criar grupos com semelhanças entre si para facilitar a visualização dos efeitos das cultivares e dos tratamentos sobre as variáveis-resposta avaliadas.

Tabela 4 – Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação.

Contrastes			Componentes de cada grupo nos contrastes			
			Cultivares			
\hat{C}_1	Cultivares BRS	vs	Cultivares Monsoy	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR
\hat{C}_2	Cultivares BRS	vs	Cultivares CD	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_3	Cultivares Monsoy	vs	Cultivares CD	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_4	Cultivares precoces	vs	Cultivares não-precoces	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, CD 213 RR, CD 214 RR e MSOY 6001 RR	vs	BRS 247 RR, CD 219 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR e VALIOSA RR
Modalidades de aplicação						
\hat{C}_5	SI	vs	SII	0,54/0,36 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)	vs	0,72/0,54 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)
\hat{C}_6	DUI	vs	DUII	0,72 kg EA ha ⁻¹ (20 DAE)	vs	0,90 kg EA ha ⁻¹ (24 DAE)
\hat{C}_7	Seqüenciais	vs	Doses Únicas	SI e SII	vs	DUI e DUII
\hat{C}_8	Doses I	vs	Doses II	SI e DUI	vs	SII e DUII
\hat{C}_9	Testemunha	vs	Seqüenciais	Testemunha sem aplicação	vs	SI e SII
\hat{C}_{10}	Testemunha	vs	Doses Únicas	Testemunha sem aplicação	vs	DUI e DUII

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito de redução de matéria seca de nódulos totais (MSNT) acumulados (Tabela 5) em plantas das variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A variedade CRISTALINA RR teve sua MSNT afetada pelas duas modalidades de aplicação seqüencial (SI e SII) e pela dose única mais alta (DUIII). A variedade CD 213 RR foi a que sofreu maior influência das aplicações de glyphosate em relação à testemunha. Para esta variedade, os tratamentos com dose maior (SII e DUIII) reduziram em até 61,4% a MSNT, e os tratamentos com dose menor (SI e DUI) em até 35,8%. As variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram a MSNT reduzida em intensidade semelhante, em relação à testemunha, por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, DUI, SII e DUIII), porém as aplicações herbicidas não diferiram entre si. As variedades BRS 245 RR, MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, BRS 247 RR, MSOY 9000 e BRS 246 RR não tiveram as suas respectivas MSNT afetadas por nenhuma das modalidades de aplicação quando comparadas com a testemunha.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença apenas na aplicação da maior dose única. As cultivares MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR e CD 213 RR apresentaram maior redução em relação às outras cultivares.

Jaworski (1972), Eberbach e Douglas (1989), Liu et al. (1991), Martensson (1992), Moorman et al. (1992), Hernandez et al. (1999), Reddy et al. (2000) encontraram efeitos de inibição de crescimento de rizóbios e nodulação em plantas de diversas espécies tratadas com glyphosate, cujos efeitos variaram de acordo com doses, espécies, e épocas de aplicação. Os resultados encontrados no presente trabalho se assemelham a esses resultados, e sugerem que as respostas às aplicações não são uniformes em relação aos materiais testados nem com relação à modalidade de aplicação.

Tabela 5 – Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca de Nódulos Totais Acumulados (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{3/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	83,7aA	89,6aA	72,1aA	85,1aA	78,8aA	79,1aA	82,7bA	73,1bA	78,2bA	82,0aA	74,9bA	70,7bA	77,3aA	85,2aA	72,2bA	66,0bA	71,4bA	70,4bA	74,3aA	71,9bA
DUI ^{6/}	78,1aA	80,9aA	90,3aA	92,4aA	66,9aA	73,5aA	70,6bA	81,5bA	62,3bA	84,5aA	69,3bA	86,6aA	81,3aA	91,0aA	64,2bA	71,1bA	70,9bA	72,5bA	86,6aA	73,6bA
SII ^{7/}	89,2aA	83,2aA	80,1aA	77,0aA	78,7aA	81,2aA	70,3bA	71,5bA	69,2bA	86,8aA	68,8bA	70,2bA	73,2aA	85,6aA	49,0cA	66,1bA	67,7bA	68,2bA	88,5aA	71,7bA
DUII ^{8/}	76,6aA	84,5aA	76,0aA	83,0aA	83,0aA	81,7aA	71,3bA	61,6bB	67,5bA	86,3aA	57,0bB	74,2bA	82,8aA	78,8aA	38,6cB	72,5bA	73,2bA	69,0bA	89,9aA	69,3bA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Bohrer e Hungria (1998) correlacionaram MSNT com a quantidade de nitrogênio total da parte aérea e encontraram correlações elevadas e significativas. Uma vez que o nitrogênio total obtido pela parte aérea das plantas é determinante na produtividade de grãos e no teor de proteínas dos mesmos e que este nitrogênio provém basicamente da atividade dos nódulos, é possível inferir que os resultados ora apresentados possam contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

O número de nódulos acumulados por vaso (NN) (Tabela 6) foi reduzido pelas quatro modalidades de aplicação em intensidade semelhante em relação às respectivas testemunhas para as cultivares AL 83 TROPICAL, CD 214 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A cultivar CD 213 RR foi a mais afetada pelas aplicações nesta variável, apresentando reduções de até 68,1% para as modalidades de aplicação com dose maior (SII e DUII), 39,8% para DUI e 28,3% para SI. BRS 242 RR apresentou redução em todas as modalidades de aplicação, com exceção da DUII. Uma hipótese para essa resposta diferencial para a dose única maior pode ser a diferença de quatro dias em relação à aplicação da DUI.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença nas aplicações com dose única (DUI e DUII) e na aplicação seqüencial com dose maior (SII). Na aplicação com dose única menor (DUI), as cultivares BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI apresentaram maior redução do número de nódulos em relação às outras cultivares. Na aplicação seqüencial com dose maior (SII), as cultivares CD 214 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram maior redução em relação às outras cultivares para esta variável. Para aplicação com dose única maior (DUII), formaram-se três grupos. As cultivares AL 83 TROPICAL RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8100 RR e MSOY 8000 RR formaram o grupo intermediário de redução para esta variável. Apresentando menor redução de número de nódulos em relação às cultivares CD 213 RR e NI e maior redução desta variável em relação às demais cultivares.

Tabela 6 – Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIETADE MA ^{3/}	Número de Nódulos Acumulados (%) ^{1/}																			
	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	82,6aA	80,8aA	67,1bA	74,3bA	79,5bA	72,3bA	74,5bA	66,5bA	68,1bA	75,6aA	76,1bA	67,9bA	67,1bA	81,0aA	71,7bA	56,5bA	69,1bA	59,9bA	68,6aA	65,2bA
DUI ^{6/}	79,3aA	79,7aA	80,2bA	82,3bA	74,0bA	72,3bB	70,2bB	71,7bB	60,8bB	83,6aA	63,2bB	79,8bA	77,9bA	82,4aA	60,2cB	64,4bB	60,9bB	60,2bB	92,2aA	63,6bB
SII ^{7/}	87,1aA	78,7aA	73,0bA	68,1bB	75,1bA	79,2bA	62,4bB	63,0bB	62,5bB	90,9aA	65,3bB	71,0bB	68,9bB	82,4aA	42,1dB	57,1bB	68,4bB	61,5bB	84,6aA	62,2bB
DUII ^{8/}	78,6aA	84,3aA	62,2bB	73,9bA	97,0aA	79,6bA	63,6bB	52,9bB	65,3bB	80,4aA	60,2bB	73,2bA	75,2bA	67,5aB	31,9dC	63,5bB	70,7bA	63,4bB	84,5aA	47,7bC

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Estudos realizados por Reddy et al. (2000) encontraram redução do número de nódulos em soja convencional tratadas com doses subletais de glyphosate e soja RR tratadas com doses de glyphosate variando de 1,12 a 2,24 kg EA ha⁻¹. Porém, estes efeitos variaram de acordo com época de aplicação e dose. Estes efeitos não se repetiram em trabalho realizado por Reddy e Zablotowicz (2003), os quais encontraram redução do acúmulo de matéria seca de nódulos sem que houvesse redução no número de nódulos acumulados em cultivares de soja RR tratadas com aplicações de 0,84 kg EA ha⁻¹ de vários saís de glyphosate.

A matéria seca do sistema radicular (MSSR) (Tabela 7) foi afetada por pelo menos uma das modalidades de aplicação de glyphosate nas variedades BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR e MSOY 8100 RR. A variedade ANTA RR teve a MSSR reduzida pelas duas modalidades de aplicação em dose única (DUI e DUII) em até 28,2% em relação à testemunha. A variedade MSOY 8100 RR apresentou redução (32,4%) de MSSR apenas na aplicação seqüencial com dose maior de glyphosate (SII). A cultivar CRISTALINA RR apresentou reduções de até 23,1% para ambas as aplicações seqüenciais (SI e SII). As cultivares BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR tiveram a MSSR reduzida em intensidade semelhante por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, SII, DUI e DUII) quando comparadas com suas respectivas testemunhas. As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246, VALIOSA e NI não tiveram MSSR afetada por nenhuma das modalidades de aplicação com glyphosate.

Comparando as cultivares, observa-se que as cultivares BRS 245 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR foram mais afetadas que as demais nas aplicações SII e DUII. A cultivar MSOY 8100 foi mais afetada que as demais, apenas na modalidade de aplicação seqüencial maior (SII). As cultivares CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR e VALIOSA RR tiveram a MSSR mais reduzida que as demais variedades apenas na modalidade de aplicação com dose única maior (DUII). As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246 RR e NI apresentaram produção de MSSR semelhantes entre si e superior em relação às demais cultivares.

Tabela 7 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca do Sistema Radicular (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0Aa	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	77,9bA	81,0aA	81,9aA	96,3aA	78,5aA	77,4aA	79,2aA	80,9bA	88,1aA	91,0aA	73,7Ba	85,1bA	65,8bA	89,6aA	71,3bA	86,4aA	89,2aA	84,2aA	91,1aA	81,9aA
DUI ^{6/}	84,9bA	88,9aA	96,7aA	95,4aA	80,1aA	88,7aA	84,3aA	87,0bA	73,9bA	91,1aA	79,1Ba	98,2aA	78,1bA	90,0aA	77,9bA	83,0aA	82,8aA	81,7aA	89,2aA	93,3aA
SII ^{7/}	69,6bB	87,7aA	94,6aA	87,7aA	86,6aA	83,6aA	82,1aA	77,0bA	86,6aA	87,9aA	78,7bA	76,9bA	59,5bB	89,0aA	62,7bB	67,6bB	81,7aA	79,2aA	89,1aA	85,6aA
DUII ^{8/}	73,6bB	90,4aA	85,8aA	93,9aA	86,0aA	88,3aA	80,7aB	76,7bB	71,8bB	92,4aA	65,7bB	90,5aA	71,0bB	90,6aA	74,2bB	89,2aA	77,7aB	86,6aA	95,0aA	84,2aA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Esses resultados concordam com os encontrados por King et al. (2001), quando estudaram o crescimento e a atividade da nitrogenase em diversas cultivares de soja RR e encontraram diferentes respostas das cultivares para a variável MSSR, ora diminuindo o acúmulo de matéria seca ora mantendo-o. Por outro lado, Reddy e Zablotowicz (2003) encontraram resultados que diferem dos obtidos neste trabalho e constataram a recuperação da planta tratada por glyphosate 14 dias após a aplicação, equiparando sua MSSR com a da testemunha sem herbicida.

Em relação ao acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 8), pouco se observou de redução significativa das modalidades de aplicação em relação às respectivas testemunhas. De modo geral, as modalidades de aplicação de glyphosate tiveram menor efeito sobre a MSPA do que sobre a MSSR. Reduções significativas da MSPA ocorreram nas cultivares MSOY 8008 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR, as quais foram afetadas pelas quatro modalidades de aplicação de glyphosate em intensidades semelhantes em relação às suas respectivas testemunhas sem aplicação. E nas cultivares CD 213 RR e AL 83 TROPICAL RR que apresentaram redução nas modalidades de aplicação SI, SII e DUII para a primeira cultivar e SI e DUII, para a segunda cultivar, respectivamente. Comparações entre as cultivares não apresentaram diferença significativa para nenhuma das modalidades de aplicação. King et al. (2001) testaram o efeito do glyphosate sobre plantas totalmente dependentes da nodulação para obtenção de nitrogênio e plantas supridas com nitrogênio mineral. Observou-se decréscimo na biomassa da parte aérea das plantas supridas ou não com nitrogênio. Esse fato sugere possível efeito direto negativo do glyphosate sobre a produção de matéria seca da parte aérea sem que a redução na nodulação seja a principal responsável por este decréscimo. Isto demonstra que os resultados obtidos no presente trabalho, apesar de terem sido observados em apenas seis das 20 cultivares testadas, já foram constatados por outros autores. Reddy et al. (2000) também encontraram diminuição da matéria seca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular de plantas de soja RR tratadas com glyphosate em comparação com a testemunha

Tabela 8 – Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIEDADE MA ^{3/}		Matéria Seca da Parte Aérea (%) ^{1/}																			
		BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	89,4aA	87,7aA	81,1bA	92,0aA	89,9aA	80,6aA	84,5aA	82,9bA	100,0aA	94,4aA	77,7aA	79,0bA	78,9bA	88,6aA	88,1bA	83,5aA	83,2bA	84,5aA	88,6aA	89,8aA	
DUI ^{6/}	88,1aA	87,9aA	99,3aA	94,0aA	85,7aA	91,0aA	83,4aA	79,8bA	94,7aA	96,7aA	89,5aA	88,8bA	85,1bA	90,2aA	97,8aA	90,5aA	78,8bA	87,3aA	93,5aA	95,0aA	
SII ^{7/}	85,9aA	88,1aA	95,1aA	87,2aA	93,5aA	90,8aA	82,4aA	84,5bA	89,0aA	90,9aA	90,8aA	85,5bA	80,6bA	87,6aA	84,9bA	84,9aA	81,2bA	85,7aA	91,5aA	89,2aA	
DUII ^{8/}	85,4aA	89,1aA	85,0bA	88,1aA	94,3aA	86,1aA	86,0aA	74,5bA	93,1aA	92,4aA	84,9aA	79,7bA	87,4bA	86,2aA	79,9bA	90,3aA	87,2bA	81,9aA	91,0aA	84,6aA	

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

sem herbicida, no entanto, esses resultados só foram possíveis com o dobro da dose máxima utilizada no presente trabalho, mostrando assim a existência de um potencial de injúria que o glyphosate pode ter sobre plantas de soja RR tratadas com doses maiores. Uma hipótese para as reduções ocorridas no acúmulo de MSPA e MSSR é processo de degradação do glyphosate dentro da planta, que resulta na formação de um determinado subproduto, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004).

CD 219 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR e VALIOSA RR apresentaram redução de três das quatro variáveis avaliadas em pelo uma das quatro modalidades de aplicação de glyphosate, quando comparadas à testemunha. No entanto, não foi encontrado, entre as cultivares um padrão de redução em relação às modalidades de aplicação, já que a cultivar ANTA RR teve a MSSR afetada apenas pelas aplicações em dose única (DUI e DUII). Por outro lado, MSOY 8100 teve redução da mesma variável apenas na modalidade de aplicação SII, demonstrando que cada cultivar responde de forma diferente às aplicações de glyphosate. Em MSOY 6001 RR, as quatro modalidades de aplicação causaram redução em relação à testemunha nas três variáveis citadas (MSNT, MSSR e NN), apresentando desta forma mais um padrão de resposta em relação aos tratamentos.

Segundo os resultados obtidos, podemos agrupar as cultivares em três grupos segundo a tolerância às aplicações de glyphosate. As cultivares BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e CD 214 RR apresentaram redução de nenhuma ou de apenas uma das variáveis comparadas com suas respectivas testemunhas, sugerindo ser um grupo de maior tolerância às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação testadas neste experimento. As cultivares ANTA RR, CRISTALINA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, CD 213 RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR foram as mais afetadas pelas aplicações de glyphosate, sendo que pelo menos três das quatro variáveis analisadas (MSNT, MSSR, MSPA, NN) foram reduzidas por pelo menos uma das modalidades de aplicação, indicando se tratar de um grupo menos tolerante às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação

testadas nesse experimento. O grupo de tolerância intermediária conta com apenas quatro cultivares: AL 83 TROPICAL, CD 219 RR, MSOY 8000 RR e NI.

Os testes com contrastes permitiram classificar os efeitos das modalidades de aplicação e das cultivares sobre as variáveis-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN) estudadas (Tabela 9).

Tabela 9 – Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Contrastes		MSSR		MSPA		MSNT		NN	
Coeficientes Θ	Coeficientes Θ	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f
Cultivares BRS	vs Cultivares Monsoy	-0,24	0,87	+2,43	0,08	+5,05	0,01	+8,80	<0,01
Cultivares BRS	vs Cultivares CD	+0,16	0,93	+1,30	0,44	+7,70	<0,01	+11,85	<0,01
Cultivares Monsoy	vs Cultivares CD	+0,40	0,83	+1,13	0,50	-2,65	0,29	-3,04	0,22
Cultivares precoces	vs Cultivares não-precoces	+0,99	0,46	+3,45	<0,01	+1,15	0,51	+4,49	0,01
SI	vs SII	+1,86	0,33	-1,25	0,45	+2,11	0,40	+1,03	0,67
DUI	vs DUII	+3,04	0,11	+3,39	0,04	+3,56	0,15	+4,16	0,09
Seqüenciais	vs Doses Únicas	-3,13*	0,02	-1,20	0,31	+0,25	0,88	-0,16	0,92
Doses I	vs Doses II	+2,45	0,07	+1,07	0,37	+2,83	0,11	+2,59	0,13
Testemunha	vs Seqüenciais	+18,40	<0,01	+13,16	<0,01	+24,12	<0,01	+29,30	<0,01
Testemunha	vs Doses Únicas	+15,26	<0,01	+11,95	<0,01	+24,38	<0,01	+29,13	<0,01

* As estimativas apresentadas em negrito são significativas pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os contrastes feitos entre modalidades de aplicação seqüenciais *versus* testemunha e doses únicas *versus* testemunha foram os únicos significativos para todas as variáveis-resposta analisadas. Em ambos os casos, houve superioridade das médias da testemunha em relação às modalidades de aplicação para as quatro variáveis estudadas (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Isto

sugere efeito de redução das variáveis-resposta quando submetidas às modalidades de aplicação analisadas por este experimento em relação à testemunha sem aplicação.

As comparações feitas entre os contrastes estabelecidos demonstraram diferença significativa para a MSSR apenas no contraste feito entre as aplicações seqüenciais e aplicações com dose única e os contrastes entre testemunha e modalidades de aplicação. Isto demonstra resposta melhor desta variável para as aplicações em dose única. Desta forma, essa variável-resposta depende mais da modalidade de aplicação do que das doses de glyphosate testadas, material genético ou grupo de maturação. Isto possivelmente se deve ao fato da maior capacidade de metabolização do glyphosate e seus subprodutos em aplicação em dose única. Segundo Monquero (2003), diversos trabalhos demonstram as vantagens de aplicação seqüencial de glyphosate em relação a uma única aplicação sobre o controle de plantas daninhas de difícil controle, cujo fato sugere que o grau de injúria nas plantas é maior nas aplicações seqüenciais em relação à aplicação única, o que pode ser aplicado também aos resultados obtidos para soja RR, nesse trabalho, em relação à MSSR.

Para MSPA, os contrastes que apresentaram significância foram grupos de maturação e comparação entre doses únicas, além dos citados anteriormente, sugerindo que a MSPA é dependente do grupo de maturação das cultivares de soja, e se tratadas com aplicações em doses únicas respondem melhor às doses menores. Uma possível explicação para este fato poderia ser a grande dependência da soja em relação ao ambiente em que está inserida, uma vez que a planta depende de fatores como temperatura e fotoperíodo para que seu desenvolvimento e floração sejam satisfatórios (EMBRAPA, 2006).

A variável MSNT demonstrou uma forte dependência do material genético da cultivar em questão, já que nenhum outro grupo testado pelos contrastes, além dos contrastes entre testemunhas e modalidades de aplicação, apresentou diferença significativa, demonstrando superioridade de acúmulo de MSNT nas cultivares BRS testadas em relação às cultivares MONSOY e CD. A importância do genótipo da soja para o bom desempenho do processo da fixação biológica do N₂ já havia sido ressaltada desde os

primeiros ensaios conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; ARRUDA, 1967). Segundo Bohrer e Hungria (1998), na ausência de uma avaliação contínua das características relacionadas à fixação do N₂, nos programas de melhoramento, pode ocorrer perdas genéticas em relação à capacidade simbiótica.

O número de nódulos (NN) foi afetado por dois dos fatores testados, além das modalidades de aplicação em relação à testemunha. Um dos fatores foi o mesmo que influencia a MSNT, ou seja, o material genético das cultivares em questão. O segundo fator (grupo de maturação) apresentou as cultivares precoces como mais favoráveis ao acúmulo de NN. Uma possível hipótese para esta superioridade do grupo precoce em relação ao não-precoce pode estar relacionada ao período de início de formação dos nódulos. Nas precoces, esse período, possivelmente, é menor que nas não-precoces, e, portanto, influenciado pelas aplicações mais tardias (2^{as} aplicações seqüenciais e as duas aplicações em dose única).

Tais informações são de grande importância, pois associam cada parte do desenvolvimento da planta (variáveis-resposta) a uma determinada fonte de variação. Desta forma, é possível inferir qual fonte de variação (material genético, grupo de maturação ou modalidades de aplicação) interfere numa determinada variável-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Tal análise permite inferências que podem contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

De modo geral, MSSR é independente do grupo de cultivar, variando segundo a modalidade de aplicação de glyphosate. MSPA apresenta uma tendência de melhor desempenho para as cultivares precoces em relação às cultivares não-precoces. E em caso de uso de aplicação em dose única, as doses menores causaram menores reduções nessa variável. Em MSNT e NN, observa-se um efeito evidente do material genético em questão, e o grupo de cultivares BRS apresentou melhor desempenho de nodulação em relação aos demais grupos, após aplicações de glyphosate. Além disso, as cultivares mais precoces tendem a nodular em maior número quando expostas às situações ora apresentadas.

Todas as doses e modalidades de aplicação de glyphosate causaram redução em todas as variáveis avaliadas. Os efeitos do glyphosate sobre a soja RR são dependentes de fatores como: variedade, grupo de maturação, época de aplicação e dose.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, 20(6):27-30, 1986.

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS,C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, 35:1461-1467, 1995.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:475-487, 1967.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, 119:15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, 93:408-412, 2001.

EMBRAPA. Exigências Climáticas. In: EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2007**. Londrina: Embrapa, 2006. 217 p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FISHER, R.S.; BERRY, A.; GAINES, C.G.; JENSEN, R.A. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in Eubacteria. **Journal of Bacteriology**, 168:1147–1154, 1986.

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

GONZINI, L.C.; HART, S.E.; WAX, L.M. Herbicide combinations for weed management in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, 13:354–360, 1999.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 47:2920-2925, 1999.

JAWORSKI, E.G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: Inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 20:1195-1198, 1972.

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, 65:112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, 28:291-296, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to trimethylsulfonium and isopropylamine salts of glyphosate. **Weed Technology**, 15:745–749, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, 57:1799-1804, 1991.

MARTENSSON, A.M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biology Biochemistry**, 24:435-445, 1992.

MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 99 p. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia).

MOORMAN, T.B.; BECERRIL, J.M.; LYDON, J.; DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 40:289-293, 1992.

NELSON, K.A.; RENNER, K.A. Weed management in wide- and narrow-row glyphosate resistant soybean. **Journal of Production Agriculture**, 12:460–465, 1999.

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

REDDY, K.N. Weed management in transgenic soybean resistant to glyphosate under conventional tillage and no-tillage systems. **Journal of New Seeds**, 3:27–40, 2001.

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

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

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, 14:204–211, 2000.

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

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

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, 33:825-831, 2004.

CAPÍTULO II

EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR

RESUMO. A principal fonte de nitrogênio para nutrição da planta é proveniente da fixação biológica do nitrogênio promovida pelas bactérias simbiotes *Bradyrhizobium spp.* presentes nas raízes da cultura, constituindo desta forma importantes instrumentos no desenvolvimento e produtividade de soja. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de herbicidas sobre duas cultivares de soja RR, BRS 245 RR e BRS 247 RR, organizados num arranjo fatorial 6 x 2 com sete repetições. Os seis níveis de aplicação de herbicida foram: testemunha sem herbicida, fomesafen em aplicação seqüencial de 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE), fomesafen/[fomesafen+fluazifop] em aplicação seqüencial de 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 DAE, fluazifop em aplicação única de 0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,540/0,360 kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹ e glyphosate em aplicação única de 0,720 kg EA ha⁻¹ aos 12/24 DAE e 20 DAE, respectivamente. Foram avaliadas as variáveis matéria seca do sistema radicular, matéria seca da parte aérea, matéria seca dos nódulos acumulados e número de nódulos acumulados. A cultivar BRS 247 RR foi afetada negativamente pelos tratamentos com glyphosate em aplicação única, e pelos tratamentos com fluazifop. A cultivar BRS 245 RR mostrou-se mais tolerante às aplicações dos herbicidas não apresentando redução em nenhuma das variáveis analisadas.

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada pela simbiose com bactérias da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* ou ambas (HUNGRIA et al., 1999), em soja. Os nódulos radiculares, centros de fixação, assimilação e exportação do nitrogênio fixado são formados após as bactérias entrarem em contato e penetrarem nas raízes da planta hospedeira, via células radiculares pilosas ou outras células epidérmicas. Após a penetração, formam-se os fios ou cordões de infecção que atingem o córtex da raiz, subdividem-se e se associam a pequenos grupos de células que darão origem aos nódulos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Quanto ao desenvolvimento da nodulação em campo, estudos indicam o aparecimento, na primeira semana após a emergência, de quatro a oito primeiros nódulos na coroa da raiz. Na segunda semana, a fixação biológica do nitrogênio já está ocorrendo (HUNGRIA et al., 1999) e continuará durante todo o ciclo da planta, atingindo seu ponto máximo no estágio de floração plena e declinando, a partir do enchimento das sementes.

Avanços na biotecnologia resultaram na criação de cultivares de soja resistentes ao glyphosate (RR), proporcionando uma opção eficaz de amplo espectro de controle pós-emergente de plantas daninhas. Glyphosate inibe a 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), uma enzima da rota do chiquimato que leva à síntese dos aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano (DUKE, 1988). As cultivares de soja RR contêm a enzima EPSPS proveniente de *Agrobacterium* sp. (PADGETTE et al., 1995) que são resistentes ao glyphosate. Apesar disso, os simbioses fixadores de N₂ presentes nas raízes da soja, *Bradyrhizobium* spp., contêm a forma sensível desta enzima (JAWORSKI, 1972; MOORMAN et al., 1992).

Segundo Marenco et al. (1993) e Santos et al. (2004), a aplicação de herbicidas sobre culturas que realizam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico pode prejudicar a eficiência na assimilação desse nutriente. Tais prejuízos devem-se à interferência do herbicida no metabolismo do microsimbionte, na planta hospedeira ou em ambos, quando em

associação (ARRUDA et al., 2001). Aplicações de herbicidas, dependendo da dose, mecanismo de ação, presença de microrganismos e sua sensibilidade destes aos princípios ativos, podem trazer conseqüências indesejáveis para a microbiota (ROYUELA et al., 1998). Segundo Santos et al. (2006), acredita-se que a maior interferência desses compostos ocorre quando eles agem sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns entre microrganismos e plantas.

A sensibilidade do *Bradyrhizobium spp.* ao glyphosate é influenciada pela concentração do herbicida e pela estirpe da bactéria (KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004). Em alguns países, constatou-se que o glyphosate provocou intoxicação em estirpes de rizóbios ou prejudicou a nodulação de soja (MALLIK; TESFAI, 1985; MOORMAN et al., 1992; HERNANDEZ et al., 1999; KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004; MALTY et al., 2006). Moorman et al. (1992) aplicaram doses de 0,5 mM de glyphosate em *B. japonicum* e encontraram inibição diferencial de crescimento entre as estirpes testadas e completa inibição de todas elas quando expostas à dose de 5 mM. Santos et al. (2004) testaram as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,26 mM do equivalente ácido de glyphosate, e constataram diferenças de crescimento entre as estirpes de rizóbios e formulações utilizadas no experimento. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Malty et al. (2006) também demonstraram efeito inibitório do glyphosate ao crescimento de *Bradyrhizobium spp.* em meio de cultura, e esse efeito foi crescente com o aumento das concentrações aplicadas, tendo também variado em razão das estirpes avaliadas. Foi constatado que concentrações iguais a 0,21 mM de glyphosate inibem 50% do crescimento (DI_{50}) da estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* BR 86 e concentrações iguais a 0,45 mM inibem 100% do crescimento de todas as estirpes de rizóbios testadas.

King et al. (2001) encontraram diferença de resultados entre as cultivares RR tratadas com glyphosate, e o efeito inibitório da nodulação variou em razão das cultivares testadas, o que sugere que há variabilidade na sensibilidade em função do material genético avaliado.

Trabalhos anteriores demonstram que em concentrações extremamente baixas (menores que 0,1 mM), o glyphosate pode ser benéfico ao desenvolvimento de certas estirpes de rizóbios, demonstrando resposta quadrática negativa na análise de regressão em relação à dose aplicada (EBERBACH; DOUGLAS, 1989). Maly et al. (2006) demonstraram que doses da ordem de 0,089 mM de Roundup (360 g L⁻¹, do equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate) proporcionaram maior desenvolvimento dos rizóbios da estirpe BR 86 em relação à testemunha sem herbicida, porém estas concentrações são menores do que as encontradas nas raízes e nódulos de plantas tratadas com doses comerciais de glyphosate, criando portanto, falsa idéia de que o glyphosate possa estimular a nodulação na planta em condições normais de cultivo. Em trabalho desenvolvido por Honegger et al. (1986), observou-se que com aplicações de glyphosate de apenas 0,5 kg EA ha⁻¹ foram encontradas concentrações acima de 0,3 mM em tecidos do sistema radicular de plantas suscetíveis. Doses maiores ou aplicações repetidas podem resultar em concentrações mais elevadas, especialmente em fortes drenos de metabólitos como é o caso dos nódulos das raízes de soja quando comparados com o sistema radicular das mesmas (MCWHORTER et al., 1980). Isto sugere a possibilidade de serem encontradas condições de grande potencial inibitório do sistema radicular e principalmente dos nódulos radiculares das plantas de soja tratadas com glyphosate por ocasião do manejo de plantas daninhas presentes na cultura.

Liu et al. (1991) também observaram efeito inibitório do glyphosate em meio de cultura, para a estirpe RM1021 de *Rhizobium meliloti*, em concentrações maiores que 1 mM. Hernandez et al. (1999) observaram inibição de crescimento que variou de 17 a 53% entre as três estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* testadas sob a concentração de 0,03 mM de glyphosate, cuja concentração é muito inferior às encontradas em raízes, nódulos e outros drenos (HONEGGER et al., 1986).

Algumas hipóteses que podem explicar o efeito supressivo sobre a produtividade de grãos em cultivares com genes inseridos provenientes de outro organismo são enumeradas por Elmore et al. (2001a): (1) processo de inserção do gene que confere a resistência ao glyphosate, (2) diferenciais genéticos entre cultivares, (3) glyphosate (efeito do herbicida) e (4) efeitos

relacionados ao seu metabolismo na planta, acarretando sub-mecanismos de ação causados por subprodutos, como o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004). Esses fatores podem causar efeito direto do glyphosate sobre as bactérias simbiotes, tais como: inibição de crescimento e redução da biomassa dos nódulos e diminuição do conteúdo de clorofila e leghemoglobina na planta (REDDY et al., 2000). Redução de produtividade de grãos da ordem de 5% em cultivares RR foi constatada em trabalho desenvolvido por Elmore et al. (2001b), quando compararam linhagens irmãs com e sem inserção do gene RR. Também têm sido observados efeitos secundários, como redução do conteúdo de clorofila e crescimento da planta (KRAUSZ; YOUNG, 2001; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004), provavelmente em virtude do efeito tóxico do metabólito AMPA proveniente da degradação do herbicida.

Em trabalho desenvolvido por Reddy et al. (2004), constatou-se que o AMPA não afeta os níveis de chiquimato, tanto em soja RR quanto em soja convencional, mostrando que seu mecanismo de ação difere do glyphosate. A fitotoxicidade do AMPA para a soja fica evidente em virtude do efeito de redução do conteúdo de clorofila e da matéria seca da parte aérea, constatados por meio de aplicações desta fitotoxina em soja RR em doses que variam de 0 a 8 kg i.a. ha⁻¹. Tais aplicações resultaram na redução do conteúdo de clorofila em até 66% e de matéria seca da parte aérea em até 39%.

Assim como o glyphosate, outros herbicidas pré e pós-emergentes podem afetar a nodulação de leguminosas. Wichert e Talbert (1993) observaram que o fluazifop-p-butil, dois dias após a sua aplicação, já estava presente nas raízes tanto na forma ativa quanto metabolizado. Santos et al. (2006) estudaram os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e a mistura deles sobre duas estirpes de *Rhizobium tropici* e constataram que a mistura comercial entre os dois herbicidas causou maior inibição de crescimento das colônias de bactérias de uma das duas estirpes testadas. Quando o fluazifop-p-butil foi adicionado em diferentes concentrações ao meio de cultura, as estirpes avaliadas não apresentaram sensibilidade diferencial em relação ao crescimento. Mesmo na maior concentração testada (0,29 mM), o número de colônias formadas foi semelhante ao observado na testemunha. Entretanto, com o aumento da concentração do fomesafen, isolado ou em mistura com

fluazifop-p-butil, observou-se inibição do crescimento das colônias de bactérias ao longo do período de avaliação. Para o fomesafen isolado, as reduções foram menores, porém mais expressivas para uma das estirpes em relação à outra. Procópio et al. (2004) observaram que os herbicidas imazethapyr e fomesafen, aplicados em meio YM para o crescimento de *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019), reduziram em mais de 40% o crescimento dessa estirpe.

Apesar dos efeitos nocivos do fomesafen às bactérias quando em contato direto, esse herbicida tem pouca ou nenhuma translocação na planta (OLIVEIRA JR., 2001), uma vez que não se move pelo floema (VIDAL, 2002). Desta forma, espera-se que não deve atingir os nódulos na forma ativa. Porém, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conta disso, entrar em contato com o sistema radicular e conseqüentemente com os nódulos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate sobre a nodulação e acúmulo de biomassa em duas cultivares de soja RR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542m de altitude, segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 10 de dezembro de 2005 a 08 de março de 2006. Foram utilizadas duas variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes da Embrapa Soja em Londrina: BRS 245 RR e BRS 247 RR.

A cultivar BRS 245 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação semi-precoce, com ciclo total de 123 a 143 dias e é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É originada do cruzamento das linhagens BRS 133 e E96-246. A cultivar BRS 247 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação médio, com ciclo total de 124 a 145 dias, é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É proveniente do cruzamento das linhagens BRS 134, Embrapa 59 e E96-246.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 1. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3×10^9 rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as

plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 1 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

pH		Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C
CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³			g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte			Argila		
g kg ⁻¹										
370		320			80			230		

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá - PR.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as duas variedades de soja RR e seis modalidades de aplicação (MA) de herbicidas. Os níveis das MA com herbicida foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de fomesafen: 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen + fluazifop-p-butil]: 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação única de fluazifop-p-butil: 0,125 kg i.a. ha⁻¹ (20 DAE); aplicação única de glyphosate: 0,720 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) e aplicação seqüencial de glyphosate: 0,540/0,360 kg EA ha⁻¹ (12/24 DAE).

As doses dos herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butil estão em kg de ingrediente ativo por hectare e as doses de glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfonometil) glicina – glyphosate por hectare. Foi adicionado Energic à calda de pulverização na concentração de 0,2% (v/v) nas aplicações com os herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butil, de acordo com a recomendação do fabricante. Os dados referentes aos herbicidas, doses, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja (FEHR; CAVINESS, 1971) são mostradas na Tabela 2.

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçadas a 50 cm entre si, posicionada na

altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião da aplicação de 12 DAE, a temperatura estava a 25°C, umidade relativa do ar (U.R.%) em 72%, solo úmido, velocidade do vento de 5 km⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade, para aplicação de 20 DAE a temperatura era de 21°C, U.R.% = 81%, solo úmido, velocidade do vento de 1 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas; para aplicação de 24 DAE a temperatura era de 28°C, U.R.% = 70%, solo úmido, velocidade do vento de 8 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Tabela 2 – Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja.

MA ^{1/} /Herbicida	Dose ^{2/}	Época de aplicação	Estádio da Soja
Testemunha	-	-	-
Seqüencial de Fomesafen ^{3/}	0,125/0,125	12/24 DAE	V3/V5
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil] ^{4/}	0,125/[0,125+0,125]	12/24 DAE	V3/V5
Dose Única de Fluazifop-p-butil ^{5/}	0,125	20 DAE	V4
Dose Única de Glyphosate ^{6/}	0,720	20 DAE	V4
Seqüencial de Glyphosate ^{6/}	0,540/0,360	12/24 DAE	V3/V5

^{1/} MA: Modalidade de aplicação

^{2/} Doses de Fomesafen e Fluazifop-p-butil em kg i.a. ha⁻¹/Doses de Glyphosate em kg EA ha⁻¹

^{3/} Produto comercial Flex

^{4/} Produto comercial Fusiflex

^{5/} Produto comercial Fusilade

^{6/} Produto comercial Roundup Transorb

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estágio R3, as plantas de soja foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foi avaliada matéria seca de parte aérea, do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do arranjo fatorial, foram analisados os efeitos isolados de modalidades de aplicação dos herbicidas e os desdobramentos da interação entre as modalidades de aplicação e as cultivares.

Os resultados do efeito isolado das modalidades de aplicação dos herbicidas mostraram influência sobre as variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN), os quais são mostrados na Tabela 3. A variável MSSR foi afetada negativamente pelos tratamentos com dose única de fluazifop e glyphosate apresentando reduções de 14,55 e 9,94%, respectivamente, para esses tratamentos.

Tabela 3 – Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Modalidade de Aplicação/Herbicida	MSSR	MSPA	MSNT	NN
Testemunha	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
Seqüencial de Fomesafen	95,37 a	95,84 a	90,21 a	87,09 b
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,48 a	94,99 a	88,92 a	82,54 b
Dose Única de Fluazifop-p-butil	85,45 b	93,63 a	72,11 b	71,78 b
Dose Única de Glyphosate	90,06 b	89,66 a	76,15 b	72,88 b
Seqüencial de Glyphosate	93,94 a	95,86 a	87,77 a	83,92 b

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

A aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop] não reduziu significativamente a MSSR, ao passo que a dose única de fluazifop reduziu esta variável. Esperava-se que o efeito de redução causado pelo fluazifop no tratamento com aplicação única se repetisse no tratamento com aplicação

seqüencial junto com fomesafen, o que não aconteceu. Uma possibilidade para isso é que as formulações dos herbicidas podem influenciar nos efeitos causados pelos mesmos. Malkones (2000) inferiu que os aditivos presentes na formulação dos agroquímicos podem afetar os microrganismos e, em certos casos, até modificar o efeito dos agroquímicos. Segundo Kishinevsky et al. (1988), é possível que solventes, surfatantes e agentes molhantes presentes nas formulações comerciais de herbicidas contribuam para os efeitos inibitórios desses produtos no crescimento de estirpes de rizóbios. Além disso, a última aplicação seqüencial de [fomesafen+ fluazifop] foi realizada quatro dias mais tarde do que a aplicação de fluazifop em dose única, o que pode ter levado ao incremento na tolerância ou na capacidade de metabolização das plantas.

Já, o fato da aplicação seqüencial de glyphosate não ter causado redução significativa na MSSR pode estar associado tanto às épocas de aplicação quanto às doses de glyphosate, como encontrado por Reddy e Zablutowicz (2003) em trabalho realizado com glyphosate, onde as épocas de aplicação influenciaram nas variáveis estudadas. A variável matéria seca da parte aérea (MSPA) não foi influenciada significativamente por nenhuma das modalidades de aplicação com herbicidas. Este fato demonstra a esperada seletividade dos herbicidas em relação à planta, porém isto não os isenta dos efeitos causados nas outras variáveis.

Os mesmos dois tratamentos que causaram redução na MSSR também diminuíram a MSNT. Essa redução foi de 27,89 e 23,85% para fluazifop e glyphosate, respectivamente. Da mesma forma, as aplicações seqüenciais que contêm esses dois ingredientes ativos não causaram redução nessa variável. A hipótese levantada para a MSSR é igualmente aplicável para explicar os resultados encontrados para esta MSNT.

O número de nódulos acumulados (NN) foi reduzido em todos os tratamentos com herbicidas em relação à testemunha sem aplicação. As reduções variaram entre 12,81 e 28,22% para fomesafen em dose única e fluazifop em dose única, respectivamente. A resposta desta variável aos tratamentos diferiu das respostas encontradas para as outras duas variáveis afetadas significativamente.

Herbicidas como o fluazifop e o glyphosate possuem ação sistêmica nas plantas, isto é, quando aplicados à parte aérea das mesmas podem se

translocar até as raízes. Tais herbicidas e seus metabólitos podem, portanto, entrar em contato direto com os simbiontes da raiz. Embora não haja relatos sobre a toxicidade de fluazifop em relação a esses organismos, inúmeros autores (KAPUSTA; ROUWENHORST, 1973; ALAGAVADI; REDDY, 1986; KISHINEVSKY et al., 1988; DELANNAY et al., 1995; REDDY et al., 2004) descreveram o efeito tóxico sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio, o que pode ter sido a causa da redução do número de nódulos nos tratamentos que continham esses herbicidas. O fomesafen é considerado um herbicida de contato (OLIVEIRA JR., 2001; VIDAL, 2002), sendo de pouca ou nenhuma mobilidade. No entanto, mesmo não havendo translocação significativa deste herbicida para o sistema radicular, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conseqüência, entrar em contato com o sistema radicular ou diretamente com os nódulos. Esta possibilidade é reforçada pelo fato de que a toxicidade do fomesafen para espécies de rizóbios já foi demonstrada por testes *in vitro* (SANTOS et al., 2006).

O fato de ter havido redução no número de nódulos e não ter ocorrido o mesmo para MSNT no tratamento com glyphosate em aplicação seqüencial explica-se pela época de aplicação do produto. De forma que a aplicação de 0,54 kg EA ha⁻¹ de glyphosate aos 12 DAE reduziu a quantidade de nódulos formados nesta primeira etapa da nodulação, ao passo que a segunda aplicação de glyphosate foi menos nociva à nodulação, já que a dose foi menor (0,36 kg EA ha⁻¹), permitindo desta forma que a planta compensasse a quantidade de nódulos não-formados na primeira etapa com nódulos de maior massa individual nessa segunda etapa de formação.

Ao analisar o desdobramento da interação entre as cultivares e modalidades de aplicação de herbicidas (Tabela 4), pode-se observar fatos específicos de relevância.

A única diferença significativa entre as cultivares foi encontrada para matéria seca do sistema radicular na aplicação de dose única de fluazifop, para a qual a cultivar BRS 245 RR demonstrou maior tolerância em relação à cultivar BRS 247 RR.

A cultivar BRS 247 RR teve a matéria seca do sistema radicular reduzida apenas pela aplicação em dose única de fluazifop. A matéria seca dos nódulos acumulados foi reduzida pelas duas aplicações em dose única, tanto

de fluazifop, quanto de glyphosate. O número de nódulos foi reduzido pelas duas aplicações que continham fluazifop, além da aplicação em dose única de glyphosate. A cultivar BRS 245 RR não teve redução em nenhuma das variáveis analisadas por nenhuma das modalidades de aplicação.

Tabela 4 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas.

Modalidade de aplicação/ Herbicida	MSSR		MSPA		MSNT		NN	
	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR
	%							
Testemunha	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA
Seqüencial de Fomesafen	91,29aA	99,44aA	98,27aA	93,41aA	86,88aA	93,55aA	86,49aA	87,69aA
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,94aA	92,01aA	95,15aA	94,83aA	88,44aA	89,40aA	80,55bA	84,53aA
Dose Única de Fluazifop-p-butil	80,44bB	90,46aA	93,10aA	94,17aA	73,71bA	70,51aA	75,28bA	68,27aA
Dose Única de Glyphosate	89,57aA	90,55aA	88,15aA	91,16aA	70,96bA	81,34aA	65,04bA	80,72aA
Seqüencial de Glyphosate	91,62aA	96,25aA	96,19aA	95,52aA	88,32aA	87,21aA	87,53aA	80,30aA

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas linhas (para uma mesma variável-resposta) não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de significância

Os resultados demonstram que existe diferença entre as cultivares em relação às aplicações. A cultivar BRS 247 RR é menos tolerante aos tratamentos aqui apresentados do que a cultivar BRS 245 RR. A modalidade de aplicação e a dose de ingrediente ativo são importantes fatores no efeito causado pelos herbicidas sobre a nodulação e desenvolvimento da planta. A variável número de nódulos foi a mais afetada pelos tratamentos. A variável matéria seca da parte aérea não foi reduzida por nenhum dos tratamentos em nenhuma das cultivares.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, v. 20, p. 27-30, 1986.

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

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS, C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, v. 35, p. 1461-1467, 1995.

DUKE, S.O. Glyphosate. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1988. p.1-70.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, v. 119, p. 15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 404-407, 2001a.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 408-412, 2001b.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

HONEGGER, J.L.; BROOKS, J.M.; ANDERSON, E.J.; PORTER, C.A.. Glyphosate transport in plants. In: CRONSHAW, J. (Ed.) **Phloem transport**. New York: Liss, 1986. p.609-618.

HUNGRIA, M; CAMPOS, R.J.; VARGAS, M.A.T.; CATTELAN, A.J.; MENDES, I.C. Microbiologia do solo e produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa, 1999. p.126-137.

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

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, v. 65, p. 112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, v. 28, p. 291-196, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of double-crop glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to broadleaf herbicides. **Weed Technology**, v. 15, p. 300-305, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect of soybean-rhizobia symbiosis. **Plant Soil**, v. 85, p. 33-41, 1985.

MALKONES, H.P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities - a review. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 8, n. 5, p. 781-789, 2000.

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

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

McWHORTER, C.G.; JORDAN, T.N.; WILLS, G.D. Translocation of 14C-glyphosate in soybean (*Glycine max*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, v. 28, p. 113-118, 1980.

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

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

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

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS J.B.; JACQUES, R.J.S.; KASUYA, M.C.M.; SILVA, A.A.; WERLANG, R.C. Crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium* sob influência dos herbicidas glyphosate potássico, fomesafen, imazethapyr e carfentrazone-ethyl. **Revista Ceres**, v. 51, n. 294, p. 179-188, 2004.

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**, v. 2, p. 37-52, 2000.

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

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

ROYUELA, M.; GONZALEZ, A.; ARRESE-IGOR, C.; APARICIO-TEJO, P.M.; GONZALEZ-MURUA, C. Imazethapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with pea. **Pesticide Science**, v. 52, p. 372-380, 1998.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VIDAL, R.A. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: **Ação dos herbicidas: absorção, translocação, e metabolização**. Porto Alegre: Evangraf, 2002. p.60-70.

WICHERT, R.A.; TALBERT, R.E. Soybean [*Glycine max* (L.)] response to lactofen. **Weed Science**, v. 41, p. 23-27, 1993.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

CONCLUSÕES

- O herbicida glyphosate causou reduções de matéria seca da parte aérea, matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- O herbicida fluazifop e a mistura [fluazifop+fomesafen] causaram redução de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- As variáveis-resposta analisadas são dependentes de diferentes fatores presentes neste trabalho.
- As cultivares têm reações diferenciadas entre si para as diferentes modalidades de aplicação utilizadas neste trabalho.
- As modalidades de aplicação causam diferentes efeitos dentro de uma mesma cultivar de soja.
- Mesmo que não haja danos visuais na parte aérea das plantas pode ocorrer perda de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e redução no número de nódulos.
- Cultivares de ciclo precoce apresentaram maior número de nódulos.
- Cultivares BRS apresentaram melhores resultados de nodulação.

APÊNDICE

Tabela 1A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	19	1000,09**	307,96 ^{ns}	1315,60**	1832,28**
Modalidade de Aplicação (MA)	4	8502,58**	4696,36**	16773,11**	24227,46**
Cv x MA	76	214,33 ^{ns}	100,62 ^{ns}	293,45 ^{ns}	391,66 ^{ns}
Cv/Test	19	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/SI	19	386,11 ^{ns}	226,46 ^{ns}	271,66 ^{ns}	338,51 ^{ns}
Cv/DUI	19	326,30 ^{ns}	210,12 ^{ns}	588,82 ^{ns}	646,38**
Cv/SII	19	620,91**	108,64 ^{ns}	657,34 ^{ns}	941,60**
Cv/DUII	19	524,09**	165,20 ^{ns}	971,58**	1472,43**
MA/BRS245 RR	4	997,46**	247,44 ^{ns}	634,42 ^{ns}	538,28 ^{ns}
MA/MSOY8151 RR	4	326,09 ^{ns}	197,16 ^{ns}	405,72 ^{ns}	544,22 ^{ns}
MA/AL83TROPICAL RR	4	406,97 ^{ns}	515,72**	903,62 ^{ns}	1524,08**
MA/CD214 RR	4	141,65 ^{ns}	186,27 ^{ns}	554,78 ^{ns}	1077,35**
MA/BRS242 RR	4	502,02 ^{ns}	197,40 ^{ns}	1000,76 ^{ns}	1082,09**
MA/BRS244 RR	4	483,78 ^{ns}	358,82 ^{ns}	697,89 ^{ns}	905,25**
MA/CD219 RR	4	499,26 ^{ns}	367,14 ^{ns}	1158,01**	1631,73**
MA/MSOY8008 RR	4	659,32**	639,89**	1450,88**	2191,80**
MA/ANTA RR	4	926,53**	155,04 ^{ns}	1550,50**	1851,00**
MA/BRS243 RR	4	143,38 ^{ns}	90,17 ^{ns}	344,01 ^{ns}	638,03 ^{ns}
MA/MSOY6001 RR	4	1128,68**	471,49 ^{ns}	1778,37**	1854,63**
MA/CRISTALINA RR	4	650,96**	510,74**	1154,12**	1154,51**
MA/BRS247 RR	4	1703,50**	485,87**	737,11 ^{ns}	1210,00**
MA/MSOY9000 RR	4	148,17 ^{ns}	211,22 ^{ns}	438,05 ^{ns}	934,10 ^{ns}
MA/CD213 RR	4	1352,89**	461,10**	3897,22**	4964,87**
MA/MSOY8100 RR	4	966,61**	296,45 ^{ns}	1411,96**	2288,76**
MA/VALIOSA RR	4	532,58 ^{ns}	489,76**	1221,49**	1599,76**
MA/MSOY8000 RR	4	460,80 ^{ns}	348,46 ^{ns}	1276,54**	2114,36**
MA/BRS246 RR	4	150,35 ^{ns}	131,16 ^{ns}	588,90 ^{ns}	944,08 ^{ns}
MA/NI	4	393,90 ^{ns}	246,74 ^{ns}	1144,26**	2620,12**
Blocos	6	1535,81	2681,93	11535,51	37445,05
Resíduo	594	257,95	200,86	445,61	431,95
Total	699				
CV(%)		18,56	15,76	26,19	27,12
Média Geral		86,53	89,95	80,59	76,62

**Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	1	304,91**	1,80 ^{ns}	109,30 ^{ns}	25,42 ^{ns}
Modalidade de Aplicação (MA)	5	339,56**	159,27 ^{ns}	1442,56**	1498,30**
Cv x MA	5	72,29 ^{ns}	23,72 ^{ns}	93,91 ^{ns}	250,13 ^{ns}
Cv/1	1	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/2	1	232,96 ^{ns}	82,66 ^{ns}	155,77 ^{ns}	4,99 ^{ns}
Cv/3	1	3,03 ^{ns}	0,35 ^{ns}	3,25 ^{ns}	55,44 ^{ns}
Cv/4	1	352,10**	4,05 ^{ns}	36,03 ^{ns}	172,13 ^{ns}
Cv/5	1	3,35 ^{ns}	31,77 ^{ns}	376,48 ^{ns}	860,20 ^{ns}
Cv/6	1	74,39 ^{ns}	1,56 ^{ns}	4,31 ^{ns}	183,31 ^{ns}
MA/BRS245 RR	5	133,43 ^{ns}	60,36 ^{ns}	730,53 ^{ns}	756,98 ^{ns}
MA/BRS247 RR	5	278,42**	122,63 ^{ns}	805,33**	991,45**
Blocos	6	105,13	190,61	455,60	559,32
Resíduo	66	70,96	67,19	293,31	338,84
Total	83				
CV(%)		9,07	8,63	19,95	22,17
Média Geral		92,88	94,99	85,86	83,03

1= Testemunha sem aplicação

2= Aplicação seqüencial de fomesafen/fomesafen

3= Aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop]

4= Aplicação em dose única de fluazifop

5= Aplicação em dose única de glyphosate

6= Aplicação seqüencial de glyphosate/glyphosate

** Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO –2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

APROVADA em 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Jamil Constantin

Prof. Dr. Robinson Luiz Contiero

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior
(Orientador)

Aos meus amados pais que me deram condições para chegar até aqui; sempre me apoiaram e fizeram de mim o que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo que está na Terra, Deus. Muito obrigado, oh! Pai por permitir que eu alcançasse este objetivo, por ter-me dado forças, perseverança e a certeza de que eu conseguiria, pois estou ao Seu lado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela imprescindível ajuda financeira.

Ao meu orientador, um obrigado mais que especial, Professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., que, honra como poucos o papel de professor e mestre; ajudou-me, apoiou-me, orientou-me, decepcionou-se e empolgou-se com fracassos e sucessos sempre ao meu lado, dando-me a garantia intelectual de que conseguiríamos.

Aos Professores Dr. Jamil Constantin, Dr. Carlos Alberto Scapim e Dr. Alessandro de Lucca e Braccini, pelo apoio e sugestões que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

À equipe de servidores do Laboratório de Plantas Daninhas – UEM – Maringá – PR., pois sem ela este trabalho não seria possível.

Aos colegas e amigos de Pós-graduação, pelo companheirismo e pela contribuição para meu crescimento intelectual.

Ao Luís Machado Homem e Milton Lopes da Silva por ajudarem sempre nos trabalhos a campo.

Aos verdadeiros amigos: Éder Blainski, Éverton Blainski, Rachel Muylaert Locks Guimarães e Sidnei Douglas Cavalieri pelo apoio e pelo ombro amigo nos momentos difíceis.

À minha família, em especial ao meu pai e minha mãe pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À minha querida namorada e amiga Márcia Maria Parente Santini, sempre presente, apoiando-me, incentivando-me e dando força nos momentos difíceis.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma cooperaram para o planejamento e execução deste trabalho.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN, filho de José Dvoranen e Amália Regina Dvoranen, nasceu na cidade de Marialva, Paraná, aos nove dias do mês de junho de 1980.

Em 2000, matriculou-se no Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Iniciou, no ano seguinte, com a participação em trabalhos de pesquisa com Plantas Daninhas, na orientação dos Professores Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. e Dr. Jamil Constantin.

Graduou-se em março de 2005 e no mesmo mês iniciou o Curso de Pós-graduação em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá – Maringá - PR.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	2
INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR	2
Resumo	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 MATERIAL E MÉTODOS	6
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	26
EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR.	26
Resumo	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	40
CONCLUSÕES	44
APÊNDICE	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência ...	6
Tabela 2	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	7
Tabela 3	Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha ⁻¹ , épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja	8
Tabela 4	Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação	10
Tabela 5	Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	12
Tabela 6	Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	14
Tabela 7	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	16
Tabela 8	Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	18
Tabela 9	Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	20
Tabela 1	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	33
Tabela 2	Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja	34

Tabela 3	Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	36
Tabela 4	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas	39
Tabela 1A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1	46
Tabela 2A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2	47

RESUMO

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2007. **Impacto do glyphosate sobre soja (*Glycine max* (L.) Merrill) transgênica e sua simbiose com *Bradyrhizobium spp.*** Orientador: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-orientador: Dr. Jamil Constantin.

Foi realizado um estudo envolvendo dois experimentos em casa de vegetação, com soja transgênica resistente ao herbicida glyphosate (RR), com o objetivo de determinar e quantificar efeitos do herbicida glyphosate sobre as plantas de soja e seu simbiote: *Bradyrhizobium spp.* O primeiro experimento foi realizado com 20 cultivares de soja RR e cinco modalidades de aplicação do herbicida glyphosate. O segundo experimento contou com duas cultivares de soja RR e seis modalidades de aplicação com os herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate. Em ambos os experimentos, foram avaliados massa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). No primeiro experimento, o glyphosate mostrou-se inibitório para todas as variáveis analisadas em pelo menos uma das cultivares testadas. A variável mais prejudicada pelas aplicações de glyphosate foi NN, posteriormente MSNT, MSSR e MSPA, com apenas seis das 20 cultivares testadas apresentando alguma redução. Os resultados sugerem que o efeito sobre MSSR é mais dependente da modalidade de aplicação do que da dose. O efeito dos tratamento sobre MSPA depende do grupo de maturação das cultivares e da modalidade de aplicação, sendo menos evidente sobre cultivares precoces e aplicações em dose única. MSNT e NN são dependentes do material genético e do grupo de maturação em questão. No segundo experimento, os herbicidas fluazifop e glyphosate causaram redução nas variáveis MSSR, MSNT e NN em apenas uma das cultivares testadas.

Palavras-chave: fixação biológica do N₂, herbicida, nodulação, Rhizobium

ABSTRACT

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, February, 2007. **Impact of glyphosate on glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and its symbiosis with *Bradyrhizobium spp.*** Adviser: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-adviser: Dr. Jamil Constantin.

A two-assay greenhouse study was conducted, with the objective of investigating and estimating the effects of the herbicide glyphosate both over glyphosate-resistant (GR) initial growth and over its symbiosis with *Bradyrhizobium spp.* The first assay was conducted with 20 GR cultivars and five modalities of glyphosate application. The second one was composed by two cultivars of GR soybean and six combinations of herbicide application including the herbicides fluazifop, fomesafen and glyphosate. For both assays, evaluations included root, shoot and nodules dry weight and number of nodules per plant. Glyphosate inhibited all plant growth parameters for at least one of the cultivars evaluated in the first experiment. The most sensitive parameter to glyphosate injuries was the number of nodules, followed by nodule dry weight, root dry weight, and shoot dry weight, showing only six of the twenty cultivars with reductions for at least one modality of glyphosate application. Results lead to the conclusion that the effect of glyphosate on root dry weight depends more upon modality of application than upon the applied rate. The effect of treatments on shoot dry weight depends upon maturation group and modality of herbicide application, being less evident for precocious cultivars and single herbicide applications. Nodule dry weight and number of nodules depend upon genetics and group of maturation. In the second experiment, the herbicides glyphosate and fluazifop provide reductions of root and nodule dry weight, as well as number of nodules in only of the two cultivars evaluated.

Key words: biological nitrogen fixation, herbicide, nodulation, Rhizobium

INTRODUÇÃO

A soja é a cultura que ocupa a maior área plantada no Brasil e é uma das principais culturas do mundo. Atualmente, os líderes mundiais na produção de soja são os Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, Índia e Paraguai. Esta cultura ocupa importante papel socioeconômico no cenário mundial e está se desenvolvendo tecnologicamente cada vez mais, em busca de melhores resultados de produtividade e lucratividade. Com o advento de novas técnicas de biotecnologia, foram criados diversos organismos geneticamente modificados (OGM). Dentre eles está a soja transgênica, que desde 1996 é cultivada nos Estados Unidos e desde 1997 na Argentina. Atualmente, o Brasil e diversos outros países também empregam a mesma tecnologia.

Atualmente, há diversos tipos de sojas transgênicas em fase de desenvolvimento. A principal delas é uma planta que recebeu um gene de outro organismo capaz de torná-la tolerante ao uso do glyphosate (RR). Esse gene foi extraído de uma bactéria do solo, conhecida por *Agrobacterium sp.*, e patenteadado por uma empresa privada com o nome CP4-EPSPS. Estruturalmente, é muito parecido com os genes que compõem o genoma de uma planta. Após inserido no genoma da soja tornou-se uma planta resistente à aplicação do herbicida.

Por se tratar de uma tecnologia muito nova, há poucos trabalhos, no mundo e, principalmente, no Brasil que estudam as características dessas plantas e sua ecofisiologia. Portanto, é necessário que se saiba cada vez mais sobre seu desenvolvimento e sua relação com o ambiente em que ela está inserida, avaliando-se todos os aspectos relacionados ao seu cultivo.

Esse trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de soja RR sob diversas modalidades de aplicação de glyphosate e outros herbicidas usados no manejo de plantas daninhas na soja, com ênfase no desenvolvimento inicial das plantas e na nodulação por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR.

RESUMO. A soja resistente ao glyphosate (RR) é uma tecnologia que vem acrescentar mais uma ferramenta no manejo de plantas daninhas para a cultura com a maior área plantada em nosso país. Por se tratar de uma técnica muito recente tanto em nosso país quanto no mundo, necessitam-se de estudos que busquem informações úteis para o uso correto desta importante e cada vez mais freqüente prática agrícola: o cultivo de soja transgênica. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de glyphosate sobre 20 cultivares de soja RR. As doses utilizadas foram: Testemunha sem herbicida; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,54/0,36 kg equivalente ácido (EA) ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE); glyphosate em aplicação única de 0,72 kg EA ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,72/0,54 kg ha⁻¹, aos 12/24 DAE; glyphosate em aplicação única de 0,90 kg ha⁻¹, aos 24 DAE. Foram avaliadas as variáveis: matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). As cultivares que demonstraram maior suscetibilidade às aplicações de glyphosate foram: MSOY 8008 RR, ANTA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, CD 219 RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR e BRS 247 RR apresentando reduções de pelo menos três das quatro variáveis estudadas. BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 246 RR, CD 214 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e BRS 245 RR foram as mais tolerantes, pois não sofreram reduções significativas em nenhuma ou apenas em uma das variáveis avaliadas. De modo geral, a MSSR foi mais afetada pela modalidade de aplicação do que pela dose de glyphosate; por outro lado, a MSPA e a nodulação foram mais afetadas em cultivares de ciclo mais longo em relação às variedades de ciclo precoce. A nodulação também foi menos afetada pelo glyphosate em variedades do grupo BRS em relação aos demais materiais genéticos.

1 INTRODUÇÃO

Glyphosate é um herbicida não-seletivo, de amplo-espectro, aplicado em pós-emergência, que controla uma grande gama de plantas daninhas, tais como: plantas de folhas largas, folhas estreitas e ciperáceas (FRANZ et al., 1997). Esse herbicida inibe a síntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas e microrganismos que possuem o ciclo do ácido chiquímico (JAWORSKI, 1972; FISHER et al., 1986). O mecanismo de ação do glyphosate é quase exclusivo, uma vez que apenas ele e o sulfosate inibem especificamente a enzima EPSPS que catalisa a condensação do ácido chiquímico à fosfoenolpiruvato (OLIVEIRA JR., 2001).

Os efeitos tóxicos do glyphosate podem ser atribuídos à (1) incapacidade dos organismos sintetizarem aminoácidos aromáticos; (2) ao dreno energético no organismo resultante da fosfoenolpiruvato (PEP) que gasta no acúmulo do chiquimato, 3-deoxy-D-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP) e ácidos hidroxibenzóicos; e (3) toxicidade dos intermediários do ciclo do ácido chiquímico acumulados (FISHER et al., 1986).

Porém, nem todos os organismos respondem da mesma forma a esse e a outros herbicidas, como foi constatado por Kapusta e Rouwenhorst (1973), Alagavadi e Reddy (1986), Kishinevsky et al. (1988) e Delannay et al. (1995). Santos et al. (2004) estudaram os efeitos de formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,00026 mM do equivalente ácido (EA) e constataram diferenças entre as estirpes de rizóbios assim como entre as formulações de glyphosate. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Estudos desenvolvidos por Moorman et al. (1992) mostraram inibição diferencial de crescimento entre estirpes de *B. japonicum* expostas a doses de 0,5 mM de glyphosate e à inibição de todas as estirpes testadas quando a dose foi elevada para 5 mM.

Nos Estados Unidos, centenas de variedades de soja transgênica resistentes ao glyphosate (RR), de diferentes grupos de maturação, encontram-se disponíveis no mercado. Segundo Zablutowicz e Reddy (2004), as respostas fisiológicas dessas variedades às aplicações de glyphosate podem variar em função de fatores como localização geográfica, condições ambientais, tipos de solo, população de rizóbios e outros fatores.

Efeitos do glyphosate na nodulação de variedades RR foram amplamente estudados por Reddy et al. (2000) e King et al. (2001). Em ambos estudos, vários parâmetros relacionados à nodulação em soja RR foram significativamente reduzidos pela aplicação de doses de glyphosate; entretanto, os resultados foram inconsistentes entre os estudos. Os estudos de Reddy et al. (2000) avaliaram os efeitos das aplicações foliares de duas doses de glyphosate (sal de isopropilamina) sobre a nodulação. Os resultados mostraram redução do número de nódulos, massa de nódulos e conteúdo de leghemoglobina para a dose de 0,84 kg de EA ha⁻¹. Porém, para o dobro desta dose não foram encontradas diferenças entre as plantas tratadas com glyphosate e as não-tratadas. Num segundo estudo desenvolvido por Reddy et al. (2000), constatou-se que aplicações em estádios precoces de desenvolvimento da soja (V1 e V3) não causaram efeitos nos parâmetros de nodulação avaliados, independente da dose aplicada. Entretanto, a aplicação mais tardia de 1,68 kg EA ha⁻¹ (três semanas após a semeadura) reduziu o número de nódulos, massa de nódulos, conteúdo de leghemoglobina e nitrogênio total da parte aérea.

Nos estudos de King et al. (2001), aplicações precoces de glyphosate (1,26 kg de EA ha⁻¹) aos cinco e 12 dias, após a emergência (DAE) (V1 e V2, respectivamente) diminuíram significativamente o acúmulo de biomassa nos nódulos em comparação com a testemunha sem aplicação aos 19 DAE em um dos dois estudos, porém o conteúdo de nitrogênio na parte aérea foi reduzido em ambos os estudos, em 34 e 36%. Aplicações mais tardias, aos 18, 25 e 32 DAE, não afetaram a biomassa de nódulos.

Efeitos negativos sobre o crescimento do sistema radicular de soja transgênica RR também foram observados em vários experimentos em casa de vegetação tanto em plantas dependentes da fixação simbiótica quanto em

plantas nutridas com fertilizante nitrogenado (REDDY et al., 2000; KING et al., 2001).

Apesar de tudo, em diversas avaliações feitas a campo por autores como Delannay et al. (1995), Gonzini et al. (1999), Nelson e Renner (1999), Reddy e Whiting (2000), Elmore et al. (2001), Krausz e Young (2001) e Reddy (2001) não foram encontradas reduções de produtividade de grãos relacionada à aplicação de glyphosate sobre variedades de soja RR.

No Brasil, o plantio foi legalmente autorizado em setembro de 2003, pela Medida Provisória nº 131, que no mesmo ano foi convertida na Lei nº 10.184, de 15 de dezembro de 2003. No entanto, a liberação para cultivo e comercialização gerou e ainda gera polêmica. Apesar dos impasses legais, segundo o relatório anual de 2006 do Serviço Internacional para a Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia (ISAAA), no Brasil, a área plantada com soja transgênica na safra 2005/06 foi de 11,4 milhões de hectares, ocupando a terceira posição entre os países que mais cultivam transgênicos no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina. Atualmente, o Brasil conta com aproximadamente 90 variedades de soja RR, de várias empresas de sementes, disponíveis para plantio. Entretanto, poucos estudos sobre os efeitos do glyphosate sobre variedades RR cultivadas, no Brasil, foram desenvolvidos. Há, desta forma, uma lacuna de conhecimento a respeito do comportamento destas variedades em relação ao glyphosate.

Deste modo, esse estudo tem como objetivo avaliar, em condições de casa de vegetação, a influência do glyphosate sobre a nodulação e o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular em 20 variedades de soja transgênica RR cultivadas no país.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 19 de dezembro de 2005 a 25 de março de 2006.

No trabalho, foram avaliadas 19 variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes das regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil e uma proveniente da Argentina. As variedades utilizadas foram BRS 245 RR; MSOY 8151 RR; AL 83 TROPICAL RR; CD 214 RR; BRS 242 RR; BRS 244 RR; CD 219 RR; MSOY 8008 RR; ANTA RR; BRS 243 RR; MSOY 6001 RR; CRISTALINA RR; BRS 247 RR; MSOY 9000 RR; CD 213 RR; MSOY 8100 RR; VALIOSA RR; MSOY 8000 RR; BRS 246 RR; Não Identificada (NI). As cultivares, grupos de maturação e respectivas procedências são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência.

Variedade	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR
Grupo de maturação	Semiprecoce	Semitaradio	Semitaradio	Precoce	Precoce	Semiprecoce	Médio	Semitaradio	-	Precoce
Procedência	Toledo PR	Goiânia GO	Rondonópolis MT	Toledo PR	Toledo PR	Toledo PR	Jataí GO	Goiânia GO	Ponta Grossa PR	Toledo PR
Variedade	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALIOSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI*
Grupo de maturação	Precoce	Tardio	Médio	Tardio	Precoce	Semitaradio	Tardio	Semitaradio	Semiprecoce	-
Procedência	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Ponta Grossa PR	Ponta Grossa PR	Adamantina SP	Goiânia GO	Toledo PR	Argentina

* NI: Obtida através de produtor rural que não soube informar de que variedade se tratava.
- Dados não-disponíveis.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 2. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3x10⁹ rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 2 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

Ph	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C	
CaCl ₂	H ₂ O	cmolc dm ⁻³						mg dm ⁻³	g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte		Argila			
g kg ⁻¹										
370		320			80		230			

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as 20 variedades de soja RR e cinco modalidades de aplicação de glyphosate. Os níveis das aplicações com glyphosate foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,54/0,36 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial I); aplicação única de glyphosate: 0,72 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) (dose única I); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,72/0,54 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial II); e

aplicação única de glyphosate: 0,90 kg EA ha⁻¹ (24 DAE) (dose única II). As doses das aplicações com glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate por hectare. A lista com as modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação de glyphosate e estádios de desenvolvimento da soja é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja.

Modalidade de aplicação	Dose em kg EA ha ⁻¹	Época de aplicação	Estádio da soja
Testemunha sem aplicação	-	-	-
Aplicação Sequencial I (SI)	0,54/0,36	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única I (DUI)	0,72	20 DAE	V4
Aplicação Sequencial II (SII)	0,72/0,54	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única II (DUII)	0,90	24 DAE	V5

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçados a 50 cm entre si, posicionada na altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião das aplicações, as condições de temperatura estavam entre 23 e 29°C, umidade relativa do ar entre 74 e 89%, solo úmido, velocidade do vento entre 5 e 10 km h⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estádio R3, as plantas foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C

até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foram avaliados matéria seca de parte aérea e do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000). Posteriormente, as cultivares foram agrupadas por materiais genéticos, grupos de maturação e modalidades de aplicação e submetidas a testes por contrastes. Os contrastes desenvolvidos foram:

$$\begin{aligned}\hat{C}_1 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} \\ &- \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000}; \\ \hat{C}_2 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} - 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_3 &= \hat{\mu}_{MSOY6001} + \hat{\mu}_{MSOY8000} + \hat{\mu}_{MSOY8008} + \hat{\mu}_{MSOY8100} + \hat{\mu}_{MSOY8151} + \hat{\mu}_{MSOY9000} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} \\ &- 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_4 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{CD213} + \hat{\mu}_{CD214} + \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{BRS247} - \\ &\hat{\mu}_{CD219} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} - \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000} - \hat{\mu}_{VALIOSA}; \\ \hat{C}_5 &= \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_6 &= \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_7 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_8 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_9 &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_{10} &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII};\end{aligned}$$

de modo que, \hat{C}_n é a estimativa do contraste e $\hat{\mu}$ é a média de cada tratamento.

As cultivares, as modalidades de aplicação e os respectivos contrastes formados estão mostrados na Tabela 4. O objetivo da comparação dos dados por contraste foi criar grupos com semelhanças entre si para facilitar a visualização dos efeitos das cultivares e dos tratamentos sobre as variáveis-resposta avaliadas.

Tabela 4 – Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação.

Contrastes			Componentes de cada grupo nos contrastes			
			Cultivares			
\hat{C}_1	Cultivares BRS	vs	Cultivares Monsoy	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR
\hat{C}_2	Cultivares BRS	vs	Cultivares CD	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_3	Cultivares Monsoy	vs	Cultivares CD	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_4	Cultivares precoces	vs	Cultivares não-precoces	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, CD 213 RR, CD 214 RR e MSOY 6001 RR	vs	BRS 247 RR, CD 219 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR e VALIOSA RR
Modalidades de aplicação						
\hat{C}_5	SI	vs	SII	0,54/0,36 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)	vs	0,72/0,54 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)
\hat{C}_6	DUI	vs	DUII	0,72 kg EA ha ⁻¹ (20 DAE)	vs	0,90 kg EA ha ⁻¹ (24 DAE)
\hat{C}_7	Seqüenciais	vs	Doses Únicas	SI e SII	vs	DUI e DUII
\hat{C}_8	Doses I	vs	Doses II	SI e DUI	vs	SII e DUII
\hat{C}_9	Testemunha	vs	Seqüenciais	Testemunha sem aplicação	vs	SI e SII
\hat{C}_{10}	Testemunha	vs	Doses Únicas	Testemunha sem aplicação	vs	DUI e DUII

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito de redução de matéria seca de nódulos totais (MSNT) acumulados (Tabela 5) em plantas das variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A variedade CRISTALINA RR teve sua MSNT afetada pelas duas modalidades de aplicação seqüencial (SI e SII) e pela dose única mais alta (DUII). A variedade CD 213 RR foi a que sofreu maior influência das aplicações de glyphosate em relação à testemunha. Para esta variedade, os tratamentos com dose maior (SII e DUII) reduziram em até 61,4% a MSNT, e os tratamentos com dose menor (SI e DUI) em até 35,8%. As variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram a MSNT reduzida em intensidade semelhante, em relação à testemunha, por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, DUI, SII e DUII), porém as aplicações herbicidas não diferiram entre si. As variedades BRS 245 RR, MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, BRS 247 RR, MSOY 9000 e BRS 246 RR não tiveram as suas respectivas MSNT afetadas por nenhuma das modalidades de aplicação quando comparadas com a testemunha.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença apenas na aplicação da maior dose única. As cultivares MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR e CD 213 RR apresentaram maior redução em relação às outras cultivares.

Jaworski (1972), Eberbach e Douglas (1989), Liu et al. (1991), Martensson (1992), Moorman et al. (1992), Hernandez et al. (1999), Reddy et al. (2000) encontraram efeitos de inibição de crescimento de rizóbios e nodulação em plantas de diversas espécies tratadas com glyphosate, cujos efeitos variaram de acordo com doses, espécies, e épocas de aplicação. Os resultados encontrados no presente trabalho se assemelham a esses resultados, e sugerem que as respostas às aplicações não são uniformes em relação aos materiais testados nem com relação à modalidade de aplicação.

Tabela 5 – Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca de Nódulos Totais Acumulados (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{3/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	83,7aA	89,6aA	72,1aA	85,1aA	78,8aA	79,1aA	82,7bA	73,1bA	78,2bA	82,0aA	74,9bA	70,7bA	77,3aA	85,2aA	72,2bA	66,0bA	71,4bA	70,4bA	74,3aA	71,9bA
DUI ^{6/}	78,1aA	80,9aA	90,3aA	92,4aA	66,9aA	73,5aA	70,6bA	81,5bA	62,3bA	84,5aA	69,3bA	86,6aA	81,3aA	91,0aA	64,2bA	71,1bA	70,9bA	72,5bA	86,6aA	73,6bA
SII ^{7/}	89,2aA	83,2aA	80,1aA	77,0aA	78,7aA	81,2aA	70,3bA	71,5bA	69,2bA	86,8aA	68,8bA	70,2bA	73,2aA	85,6aA	49,0cA	66,1bA	67,7bA	68,2bA	88,5aA	71,7bA
DUII ^{8/}	76,6aA	84,5aA	76,0aA	83,0aA	83,0aA	81,7aA	71,3bA	61,6bB	67,5bA	86,3aA	57,0bB	74,2bA	82,8aA	78,8aA	38,6cB	72,5bA	73,2bA	69,0bA	89,9aA	69,3bA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Bohrer e Hungria (1998) correlacionaram MSNT com a quantidade de nitrogênio total da parte aérea e encontraram correlações elevadas e significativas. Uma vez que o nitrogênio total obtido pela parte aérea das plantas é determinante na produtividade de grãos e no teor de proteínas dos mesmos e que este nitrogênio provém basicamente da atividade dos nódulos, é possível inferir que os resultados ora apresentados possam contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

O número de nódulos acumulados por vaso (NN) (Tabela 6) foi reduzido pelas quatro modalidades de aplicação em intensidade semelhante em relação às respectivas testemunhas para as cultivares AL 83 TROPICAL, CD 214 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A cultivar CD 213 RR foi a mais afetada pelas aplicações nesta variável, apresentando reduções de até 68,1% para as modalidades de aplicação com dose maior (SII e DUII), 39,8% para DUI e 28,3% para SI. BRS 242 RR apresentou redução em todas as modalidades de aplicação, com exceção da DUII. Uma hipótese para essa resposta diferencial para a dose única maior pode ser a diferença de quatro dias em relação à aplicação da DUI.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença nas aplicações com dose única (DUI e DUII) e na aplicação seqüencial com dose maior (SII). Na aplicação com dose única menor (DUI), as cultivares BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI apresentaram maior redução do número de nódulos em relação às outras cultivares. Na aplicação seqüencial com dose maior (SII), as cultivares CD 214 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram maior redução em relação às outras cultivares para esta variável. Para aplicação com dose única maior (DUII), formaram-se três grupos. As cultivares AL 83 TROPICAL RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8100 RR e MSOY 8000 RR formaram o grupo intermediário de redução para esta variável. Apresentando menor redução de número de nódulos em relação às cultivares CD 213 RR e NI e maior redução desta variável em relação às demais cultivares.

Tabela 6 – Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIETADE MA ^{3/}	Número de Nódulos Acumulados (%) ^{1/}																			
	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	82,6aA	80,8aA	67,1bA	74,3bA	79,5bA	72,3bA	74,5bA	66,5bA	68,1bA	75,6aA	76,1bA	67,9bA	67,1bA	81,0aA	71,7bA	56,5bA	69,1bA	59,9bA	68,6aA	65,2bA
DUI ^{6/}	79,3aA	79,7aA	80,2bA	82,3bA	74,0bA	72,3bB	70,2bB	71,7bB	60,8bB	83,6aA	63,2bB	79,8bA	77,9bA	82,4aA	60,2cB	64,4bB	60,9bB	60,2bB	92,2aA	63,6bB
SII ^{7/}	87,1aA	78,7aA	73,0bA	68,1bB	75,1bA	79,2bA	62,4bB	63,0bB	62,5bB	90,9aA	65,3bB	71,0bB	68,9bB	82,4aA	42,1dB	57,1bB	68,4bB	61,5bB	84,6aA	62,2bB
DUII ^{8/}	78,6aA	84,3aA	62,2bB	73,9bA	97,0aA	79,6bA	63,6bB	52,9bB	65,3bB	80,4aA	60,2bB	73,2bA	75,2bA	67,5aB	31,9dC	63,5bB	70,7bA	63,4bB	84,5aA	47,7bC

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Estudos realizados por Reddy et al. (2000) encontraram redução do número de nódulos em soja convencional tratadas com doses subletais de glyphosate e soja RR tratadas com doses de glyphosate variando de 1,12 a 2,24 kg EA ha⁻¹. Porém, estes efeitos variaram de acordo com época de aplicação e dose. Estes efeitos não se repetiram em trabalho realizado por Reddy e Zablotowicz (2003), os quais encontraram redução do acúmulo de matéria seca de nódulos sem que houvesse redução no número de nódulos acumulados em cultivares de soja RR tratadas com aplicações de 0,84 kg EA ha⁻¹ de vários saís de glyphosate.

A matéria seca do sistema radicular (MSSR) (Tabela 7) foi afetada por pelo menos uma das modalidades de aplicação de glyphosate nas variedades BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR e MSOY 8100 RR. A variedade ANTA RR teve a MSSR reduzida pelas duas modalidades de aplicação em dose única (DUI e DUII) em até 28,2% em relação à testemunha. A variedade MSOY 8100 RR apresentou redução (32,4%) de MSSR apenas na aplicação seqüencial com dose maior de glyphosate (SII). A cultivar CRISTALINA RR apresentou reduções de até 23,1% para ambas as aplicações seqüenciais (SI e SII). As cultivares BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR tiveram a MSSR reduzida em intensidade semelhante por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, SII, DUI e DUII) quando comparadas com suas respectivas testemunhas. As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246, VALIOSA e NI não tiveram MSSR afetada por nenhuma das modalidades de aplicação com glyphosate.

Comparando as cultivares, observa-se que as cultivares BRS 245 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR foram mais afetadas que as demais nas aplicações SII e DUII. A cultivar MSOY 8100 foi mais afetada que as demais, apenas na modalidade de aplicação seqüencial maior (SII). As cultivares CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR e VALIOSA RR tiveram a MSSR mais reduzida que as demais variedades apenas na modalidade de aplicação com dose única maior (DUII). As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246 RR e NI apresentaram produção de MSSR semelhantes entre si e superior em relação às demais cultivares.

Tabela 7 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca do Sistema Radicular (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0Aa	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	77,9bA	81,0aA	81,9aA	96,3aA	78,5aA	77,4aA	79,2aA	80,9bA	88,1aA	91,0aA	73,7Ba	85,1bA	65,8bA	89,6aA	71,3bA	86,4aA	89,2aA	84,2aA	91,1aA	81,9aA
DUI ^{6/}	84,9bA	88,9aA	96,7aA	95,4aA	80,1aA	88,7aA	84,3aA	87,0bA	73,9bA	91,1aA	79,1Ba	98,2aA	78,1bA	90,0aA	77,9bA	83,0aA	82,8aA	81,7aA	89,2aA	93,3aA
SII ^{7/}	69,6bB	87,7aA	94,6aA	87,7aA	86,6aA	83,6aA	82,1aA	77,0bA	86,6aA	87,9aA	78,7bA	76,9bA	59,5bB	89,0aA	62,7bB	67,6bB	81,7aA	79,2aA	89,1aA	85,6aA
DUII ^{8/}	73,6bB	90,4aA	85,8aA	93,9aA	86,0aA	88,3aA	80,7aB	76,7bB	71,8bB	92,4aA	65,7bB	90,5aA	71,0bB	90,6aA	74,2bB	89,2aA	77,7aB	86,6aA	95,0aA	84,2aA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Esses resultados concordam com os encontrados por King et al. (2001), quando estudaram o crescimento e a atividade da nitrogenase em diversas cultivares de soja RR e encontraram diferentes respostas das cultivares para a variável MSSR, ora diminuindo o acúmulo de matéria seca ora mantendo-o. Por outro lado, Reddy e Zablotowicz (2003) encontraram resultados que diferem dos obtidos neste trabalho e constataram a recuperação da planta tratada por glyphosate 14 dias após a aplicação, equiparando sua MSSR com a da testemunha sem herbicida.

Em relação ao acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 8), pouco se observou de redução significativa das modalidades de aplicação em relação às respectivas testemunhas. De modo geral, as modalidades de aplicação de glyphosate tiveram menor efeito sobre a MSPA do que sobre a MSSR. Reduções significativas da MSPA ocorreram nas cultivares MSOY 8008 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR, as quais foram afetadas pelas quatro modalidades de aplicação de glyphosate em intensidades semelhantes em relação às suas respectivas testemunhas sem aplicação. E nas cultivares CD 213 RR e AL 83 TROPICAL RR que apresentaram redução nas modalidades de aplicação SI, SII e DUII para a primeira cultivar e SI e DUII, para a segunda cultivar, respectivamente. Comparações entre as cultivares não apresentaram diferença significativa para nenhuma das modalidades de aplicação. King et al. (2001) testaram o efeito do glyphosate sobre plantas totalmente dependentes da nodulação para obtenção de nitrogênio e plantas supridas com nitrogênio mineral. Observou-se decréscimo na biomassa da parte aérea das plantas supridas ou não com nitrogênio. Esse fato sugere possível efeito direto negativo do glyphosate sobre a produção de matéria seca da parte aérea sem que a redução na nodulação seja a principal responsável por este decréscimo. Isto demonstra que os resultados obtidos no presente trabalho, apesar de terem sido observados em apenas seis das 20 cultivares testadas, já foram constatados por outros autores. Reddy et al. (2000) também encontraram diminuição da matéria seca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular de plantas de soja RR tratadas com glyphosate em comparação com a testemunha

Tabela 8 – Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIEDADE MA ^{3/}		Matéria Seca da Parte Aérea (%) ^{1/}																			
		BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	89,4aA	87,7aA	81,1bA	92,0aA	89,9aA	80,6aA	84,5aA	82,9bA	100,0aA	94,4aA	77,7aA	79,0bA	78,9bA	88,6aA	88,1bA	83,5aA	83,2bA	84,5aA	88,6aA	89,8aA	
DUI ^{6/}	88,1aA	87,9aA	99,3aA	94,0aA	85,7aA	91,0aA	83,4aA	79,8bA	94,7aA	96,7aA	89,5aA	88,8bA	85,1bA	90,2aA	97,8aA	90,5aA	78,8bA	87,3aA	93,5aA	95,0aA	
SII ^{7/}	85,9aA	88,1aA	95,1aA	87,2aA	93,5aA	90,8aA	82,4aA	84,5bA	89,0aA	90,9aA	90,8aA	85,5bA	80,6bA	87,6aA	84,9bA	84,9aA	81,2bA	85,7aA	91,5aA	89,2aA	
DUII ^{8/}	85,4aA	89,1aA	85,0bA	88,1aA	94,3aA	86,1aA	86,0aA	74,5bA	93,1aA	92,4aA	84,9aA	79,7bA	87,4bA	86,2aA	79,9bA	90,3aA	87,2bA	81,9aA	91,0aA	84,6aA	

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

sem herbicida, no entanto, esses resultados só foram possíveis com o dobro da dose máxima utilizada no presente trabalho, mostrando assim a existência de um potencial de injúria que o glyphosate pode ter sobre plantas de soja RR tratadas com doses maiores. Uma hipótese para as reduções ocorridas no acúmulo de MSPA e MSSR é processo de degradação do glyphosate dentro da planta, que resulta na formação de um determinado subproduto, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004).

CD 219 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR e VALIOSA RR apresentaram redução de três das quatro variáveis avaliadas em pelo uma das quatro modalidades de aplicação de glyphosate, quando comparadas à testemunha. No entanto, não foi encontrado, entre as cultivares um padrão de redução em relação às modalidades de aplicação, já que a cultivar ANTA RR teve a MSSR afetada apenas pelas aplicações em dose única (DUI e DUII). Por outro lado, MSOY 8100 teve redução da mesma variável apenas na modalidade de aplicação SII, demonstrando que cada cultivar responde de forma diferente às aplicações de glyphosate. Em MSOY 6001 RR, as quatro modalidades de aplicação causaram redução em relação à testemunha nas três variáveis citadas (MSNT, MSSR e NN), apresentando desta forma mais um padrão de resposta em relação aos tratamentos.

Segundo os resultados obtidos, podemos agrupar as cultivares em três grupos segundo a tolerância às aplicações de glyphosate. As cultivares BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e CD 214 RR apresentaram redução de nenhuma ou de apenas uma das variáveis comparadas com suas respectivas testemunhas, sugerindo ser um grupo de maior tolerância às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação testadas neste experimento. As cultivares ANTA RR, CRISTALINA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, CD 213 RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR foram as mais afetadas pelas aplicações de glyphosate, sendo que pelo menos três das quatro variáveis analisadas (MSNT, MSSR, MSPA, NN) foram reduzidas por pelo menos uma das modalidades de aplicação, indicando se tratar de um grupo menos tolerante às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação

testadas nesse experimento. O grupo de tolerância intermediária conta com apenas quatro cultivares: AL 83 TROPICAL, CD 219 RR, MSOY 8000 RR e NI.

Os testes com contrastes permitiram classificar os efeitos das modalidades de aplicação e das cultivares sobre as variáveis-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN) estudadas (Tabela 9).

Tabela 9 – Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Contrastes		MSSR		MSPA		MSNT		NN	
Coeficientes Θ	Coeficientes Θ	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f
Cultivares BRS	vs Cultivares Monsoy	-0,24	0,87	+2,43	0,08	+5,05	0,01	+8,80	<0,01
Cultivares BRS	vs Cultivares CD	+0,16	0,93	+1,30	0,44	+7,70	<0,01	+11,85	<0,01
Cultivares Monsoy	vs Cultivares CD	+0,40	0,83	+1,13	0,50	-2,65	0,29	-3,04	0,22
Cultivares precoces	vs Cultivares não-precoces	+0,99	0,46	+3,45	<0,01	+1,15	0,51	+4,49	0,01
SI	vs SII	+1,86	0,33	-1,25	0,45	+2,11	0,40	+1,03	0,67
DUI	vs DUII	+3,04	0,11	+3,39	0,04	+3,56	0,15	+4,16	0,09
Seqüenciais	vs Doses Únicas	-3,13*	0,02	-1,20	0,31	+0,25	0,88	-0,16	0,92
Doses I	vs Doses II	+2,45	0,07	+1,07	0,37	+2,83	0,11	+2,59	0,13
Testemunha	vs Seqüenciais	+18,40	<0,01	+13,16	<0,01	+24,12	<0,01	+29,30	<0,01
Testemunha	vs Doses Únicas	+15,26	<0,01	+11,95	<0,01	+24,38	<0,01	+29,13	<0,01

* As estimativas apresentadas em negrito são significativas pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os contrastes feitos entre modalidades de aplicação seqüenciais *versus* testemunha e doses únicas *versus* testemunha foram os únicos significativos para todas as variáveis-resposta analisadas. Em ambos os casos, houve superioridade das médias da testemunha em relação às modalidades de aplicação para as quatro variáveis estudadas (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Isto

sugere efeito de redução das variáveis-resposta quando submetidas às modalidades de aplicação analisadas por este experimento em relação à testemunha sem aplicação.

As comparações feitas entre os contrastes estabelecidos demonstraram diferença significativa para a MSSR apenas no contraste feito entre as aplicações seqüenciais e aplicações com dose única e os contrastes entre testemunha e modalidades de aplicação. Isto demonstra resposta melhor desta variável para as aplicações em dose única. Desta forma, essa variável-resposta depende mais da modalidade de aplicação do que das doses de glyphosate testadas, material genético ou grupo de maturação. Isto possivelmente se deve ao fato da maior capacidade de metabolização do glyphosate e seus subprodutos em aplicação em dose única. Segundo Monquero (2003), diversos trabalhos demonstram as vantagens de aplicação seqüencial de glyphosate em relação a uma única aplicação sobre o controle de plantas daninhas de difícil controle, cujo fato sugere que o grau de injúria nas plantas é maior nas aplicações seqüenciais em relação à aplicação única, o que pode ser aplicado também aos resultados obtidos para soja RR, nesse trabalho, em relação à MSSR.

Para MSPA, os contrastes que apresentaram significância foram grupos de maturação e comparação entre doses únicas, além dos citados anteriormente, sugerindo que a MSPA é dependente do grupo de maturação das cultivares de soja, e se tratadas com aplicações em doses únicas respondem melhor às doses menores. Uma possível explicação para este fato poderia ser a grande dependência da soja em relação ao ambiente em que está inserida, uma vez que a planta depende de fatores como temperatura e fotoperíodo para que seu desenvolvimento e floração sejam satisfatórios (EMBRAPA, 2006).

A variável MSNT demonstrou uma forte dependência do material genético da cultivar em questão, já que nenhum outro grupo testado pelos contrastes, além dos contrastes entre testemunhas e modalidades de aplicação, apresentou diferença significativa, demonstrando superioridade de acúmulo de MSNT nas cultivares BRS testadas em relação às cultivares MONSOY e CD. A importância do genótipo da soja para o bom desempenho do processo da fixação biológica do N₂ já havia sido ressaltada desde os

primeiros ensaios conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; ARRUDA, 1967). Segundo Bohrer e Hungria (1998), na ausência de uma avaliação contínua das características relacionadas à fixação do N₂, nos programas de melhoramento, pode ocorrer perdas genéticas em relação à capacidade simbiótica.

O número de nódulos (NN) foi afetado por dois dos fatores testados, além das modalidades de aplicação em relação à testemunha. Um dos fatores foi o mesmo que influencia a MSNT, ou seja, o material genético das cultivares em questão. O segundo fator (grupo de maturação) apresentou as cultivares precoces como mais favoráveis ao acúmulo de NN. Uma possível hipótese para esta superioridade do grupo precoce em relação ao não-precoce pode estar relacionada ao período de início de formação dos nódulos. Nas precoces, esse período, possivelmente, é menor que nas não-precoces, e, portanto, influenciado pelas aplicações mais tardias (2^{as} aplicações seqüenciais e as duas aplicações em dose única).

Tais informações são de grande importância, pois associam cada parte do desenvolvimento da planta (variáveis-resposta) a uma determinada fonte de variação. Desta forma, é possível inferir qual fonte de variação (material genético, grupo de maturação ou modalidades de aplicação) interfere numa determinada variável-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Tal análise permite inferências que podem contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

De modo geral, MSSR é independente do grupo de cultivar, variando segundo a modalidade de aplicação de glyphosate. MSPA apresenta uma tendência de melhor desempenho para as cultivares precoces em relação às cultivares não-precoces. E em caso de uso de aplicação em dose única, as doses menores causaram menores reduções nessa variável. Em MSNT e NN, observa-se um efeito evidente do material genético em questão, e o grupo de cultivares BRS apresentou melhor desempenho de nodulação em relação aos demais grupos, após aplicações de glyphosate. Além disso, as cultivares mais precoces tendem a nodular em maior número quando expostas às situações ora apresentadas.

Todas as doses e modalidades de aplicação de glyphosate causaram redução em todas as variáveis avaliadas. Os efeitos do glyphosate sobre a soja RR são dependentes de fatores como: variedade, grupo de maturação, época de aplicação e dose.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, 20(6):27-30, 1986.

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS,C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, 35:1461-1467, 1995.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:475-487, 1967.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, 119:15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, 93:408–412, 2001.

EMBRAPA. Exigências Climáticas. In: EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2007**. Londrina: Embrapa, 2006. 217 p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FISHER, R.S.; BERRY, A.; GAINES, C.G.; JENSEN, R.A. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in Eubacteria. **Journal of Bacteriology**, 168:1147–1154, 1986.

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

GONZINI, L.C.; HART, S.E.; WAX, L.M. Herbicide combinations for weed management in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, 13:354–360, 1999.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 47:2920-2925, 1999.

JAWORSKI, E.G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: Inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 20:1195-1198, 1972.

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, 65:112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, 28:291-296, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to trimethylsulfonium and isopropylamine salts of glyphosate. **Weed Technology**, 15:745–749, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, 57:1799-1804, 1991.

MARTENSSON, A.M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biology Biochemistry**, 24:435-445, 1992.

MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 99 p. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia).

MOORMAN, T.B.; BECERRIL, J.M.; LYDON, J.; DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 40:289-293, 1992.

NELSON, K.A.; RENNER, K.A. Weed management in wide- and narrow-row glyphosate resistant soybean. **Journal of Production Agriculture**, 12:460–465, 1999.

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

REDDY, K.N. Weed management in transgenic soybean resistant to glyphosate under conventional tillage and no-tillage systems. **Journal of New Seeds**, 3:27–40, 2001.

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

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

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, 14:204–211, 2000.

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

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

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, 33:825-831, 2004.

CAPÍTULO II

EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR

RESUMO. A principal fonte de nitrogênio para nutrição da planta é proveniente da fixação biológica do nitrogênio promovida pelas bactérias simbiotes *Bradyrhizobium spp.* presentes nas raízes da cultura, constituindo desta forma importantes instrumentos no desenvolvimento e produtividade de soja. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de herbicidas sobre duas cultivares de soja RR, BRS 245 RR e BRS 247 RR, organizados num arranjo fatorial 6 x 2 com sete repetições. Os seis níveis de aplicação de herbicida foram: testemunha sem herbicida, fomesafen em aplicação seqüencial de 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE), fomesafen/[fomesafen+fluazifop] em aplicação seqüencial de 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 DAE, fluazifop em aplicação única de 0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,540/0,360 kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹ e glyphosate em aplicação única de 0,720 kg EA ha⁻¹ aos 12/24 DAE e 20 DAE, respectivamente. Foram avaliadas as variáveis matéria seca do sistema radicular, matéria seca da parte aérea, matéria seca dos nódulos acumulados e número de nódulos acumulados. A cultivar BRS 247 RR foi afetada negativamente pelos tratamentos com glyphosate em aplicação única, e pelos tratamentos com fluazifop. A cultivar BRS 245 RR mostrou-se mais tolerante às aplicações dos herbicidas não apresentando redução em nenhuma das variáveis analisadas.

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada pela simbiose com bactérias da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* ou ambas (HUNGRIA et al., 1999), em soja. Os nódulos radiculares, centros de fixação, assimilação e exportação do nitrogênio fixado são formados após as bactérias entrarem em contato e penetrarem nas raízes da planta hospedeira, via células radiculares pilosas ou outras células epidérmicas. Após a penetração, formam-se os fios ou cordões de infecção que atingem o córtex da raiz, subdividem-se e se associam a pequenos grupos de células que darão origem aos nódulos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Quanto ao desenvolvimento da nodulação em campo, estudos indicam o aparecimento, na primeira semana após a emergência, de quatro a oito primeiros nódulos na coroa da raiz. Na segunda semana, a fixação biológica do nitrogênio já está ocorrendo (HUNGRIA et al., 1999) e continuará durante todo o ciclo da planta, atingindo seu ponto máximo no estágio de floração plena e declinando, a partir do enchimento das sementes.

Avanços na biotecnologia resultaram na criação de cultivares de soja resistentes ao glyphosate (RR), proporcionando uma opção eficaz de amplo espectro de controle pós-emergente de plantas daninhas. Glyphosate inibe a 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), uma enzima da rota do chiquimato que leva à síntese dos aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano (DUKE, 1988). As cultivares de soja RR contêm a enzima EPSPS proveniente de *Agrobacterium* sp. (PADGETTE et al., 1995) que são resistentes ao glyphosate. Apesar disso, os simbioses fixadores de N₂ presentes nas raízes da soja, *Bradyrhizobium* spp., contêm a forma sensível desta enzima (JAWORSKI, 1972; MOORMAN et al., 1992).

Segundo Marenco et al. (1993) e Santos et al. (2004), a aplicação de herbicidas sobre culturas que realizam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico pode prejudicar a eficiência na assimilação desse nutriente. Tais prejuízos devem-se à interferência do herbicida no metabolismo do microsimbionte, na planta hospedeira ou em ambos, quando em

associação (ARRUDA et al., 2001). Aplicações de herbicidas, dependendo da dose, mecanismo de ação, presença de microrganismos e sua sensibilidade destes aos princípios ativos, podem trazer conseqüências indesejáveis para a microbiota (ROYUELA et al., 1998). Segundo Santos et al. (2006), acredita-se que a maior interferência desses compostos ocorre quando eles agem sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns entre microrganismos e plantas.

A sensibilidade do *Bradyrhizobium spp.* ao glyphosate é influenciada pela concentração do herbicida e pela estirpe da bactéria (KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004). Em alguns países, constatou-se que o glyphosate provocou intoxicação em estirpes de rizóbios ou prejudicou a nodulação de soja (MALLIK; TESFAI, 1985; MOORMAN et al., 1992; HERNANDEZ et al., 1999; KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004; MALTY et al., 2006). Moorman et al. (1992) aplicaram doses de 0,5 mM de glyphosate em *B. japonicum* e encontraram inibição diferencial de crescimento entre as estirpes testadas e completa inibição de todas elas quando expostas à dose de 5 mM. Santos et al. (2004) testaram as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,26 mM do equivalente ácido de glyphosate, e constataram diferenças de crescimento entre as estirpes de rizóbios e formulações utilizadas no experimento. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Malty et al. (2006) também demonstraram efeito inibitório do glyphosate ao crescimento de *Bradyrhizobium spp.* em meio de cultura, e esse efeito foi crescente com o aumento das concentrações aplicadas, tendo também variado em razão das estirpes avaliadas. Foi constatado que concentrações iguais a 0,21 mM de glyphosate inibem 50% do crescimento (DI_{50}) da estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* BR 86 e concentrações iguais a 0,45 mM inibem 100% do crescimento de todas as estirpes de rizóbios testadas.

King et al. (2001) encontraram diferença de resultados entre as cultivares RR tratadas com glyphosate, e o efeito inibitório da nodulação variou em razão das cultivares testadas, o que sugere que há variabilidade na sensibilidade em função do material genético avaliado.

Trabalhos anteriores demonstram que em concentrações extremamente baixas (menores que 0,1 mM), o glyphosate pode ser benéfico ao desenvolvimento de certas estirpes de rizóbios, demonstrando resposta quadrática negativa na análise de regressão em relação à dose aplicada (EBERBACH; DOUGLAS, 1989). Maly et al. (2006) demonstraram que doses da ordem de 0,089 mM de Roundup (360 g L⁻¹, do equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate) proporcionaram maior desenvolvimento dos rizóbios da estirpe BR 86 em relação à testemunha sem herbicida, porém estas concentrações são menores do que as encontradas nas raízes e nódulos de plantas tratadas com doses comerciais de glyphosate, criando portanto, falsa idéia de que o glyphosate possa estimular a nodulação na planta em condições normais de cultivo. Em trabalho desenvolvido por Honegger et al. (1986), observou-se que com aplicações de glyphosate de apenas 0,5 kg EA ha⁻¹ foram encontradas concentrações acima de 0,3 mM em tecidos do sistema radicular de plantas suscetíveis. Doses maiores ou aplicações repetidas podem resultar em concentrações mais elevadas, especialmente em fortes drenos de metabólitos como é o caso dos nódulos das raízes de soja quando comparados com o sistema radicular das mesmas (MCWHORTER et al., 1980). Isto sugere a possibilidade de serem encontradas condições de grande potencial inibitório do sistema radicular e principalmente dos nódulos radiculares das plantas de soja tratadas com glyphosate por ocasião do manejo de plantas daninhas presentes na cultura.

Liu et al. (1991) também observaram efeito inibitório do glyphosate em meio de cultura, para a estirpe RM1021 de *Rhizobium meliloti*, em concentrações maiores que 1 mM. Hernandez et al. (1999) observaram inibição de crescimento que variou de 17 a 53% entre as três estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* testadas sob a concentração de 0,03 mM de glyphosate, cuja concentração é muito inferior às encontradas em raízes, nódulos e outros drenos (HONEGGER et al., 1986).

Algumas hipóteses que podem explicar o efeito supressivo sobre a produtividade de grãos em cultivares com genes inseridos provenientes de outro organismo são enumeradas por Elmore et al. (2001a): (1) processo de inserção do gene que confere a resistência ao glyphosate, (2) diferenciais genéticos entre cultivares, (3) glyphosate (efeito do herbicida) e (4) efeitos

relacionados ao seu metabolismo na planta, acarretando sub-mecanismos de ação causados por subprodutos, como o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004). Esses fatores podem causar efeito direto do glyphosate sobre as bactérias simbiotes, tais como: inibição de crescimento e redução da biomassa dos nódulos e diminuição do conteúdo de clorofila e leghemoglobina na planta (REDDY et al., 2000). Redução de produtividade de grãos da ordem de 5% em cultivares RR foi constatada em trabalho desenvolvido por Elmore et al. (2001b), quando compararam linhagens irmãs com e sem inserção do gene RR. Também têm sido observados efeitos secundários, como redução do conteúdo de clorofila e crescimento da planta (KRAUSZ; YOUNG, 2001; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004), provavelmente em virtude do efeito tóxico do metabólito AMPA proveniente da degradação do herbicida.

Em trabalho desenvolvido por Reddy et al. (2004), constatou-se que o AMPA não afeta os níveis de chiquimato, tanto em soja RR quanto em soja convencional, mostrando que seu mecanismo de ação difere do glyphosate. A fitotoxicidade do AMPA para a soja fica evidente em virtude do efeito de redução do conteúdo de clorofila e da matéria seca da parte aérea, constatados por meio de aplicações desta fitotoxina em soja RR em doses que variam de 0 a 8 kg i.a. ha⁻¹. Tais aplicações resultaram na redução do conteúdo de clorofila em até 66% e de matéria seca da parte aérea em até 39%.

Assim como o glyphosate, outros herbicidas pré e pós-emergentes podem afetar a nodulação de leguminosas. Wichert e Talbert (1993) observaram que o fluazifop-p-butil, dois dias após a sua aplicação, já estava presente nas raízes tanto na forma ativa quanto metabolizado. Santos et al. (2006) estudaram os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e a mistura deles sobre duas estirpes de *Rhizobium tropici* e constataram que a mistura comercial entre os dois herbicidas causou maior inibição de crescimento das colônias de bactérias de uma das duas estirpes testadas. Quando o fluazifop-p-butil foi adicionado em diferentes concentrações ao meio de cultura, as estirpes avaliadas não apresentaram sensibilidade diferencial em relação ao crescimento. Mesmo na maior concentração testada (0,29 mM), o número de colônias formadas foi semelhante ao observado na testemunha. Entretanto, com o aumento da concentração do fomesafen, isolado ou em mistura com

fluazifop-p-butil, observou-se inibição do crescimento das colônias de bactérias ao longo do período de avaliação. Para o fomesafen isolado, as reduções foram menores, porém mais expressivas para uma das estirpes em relação à outra. Procópio et al. (2004) observaram que os herbicidas imazethapyr e fomesafen, aplicados em meio YM para o crescimento de *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019), reduziram em mais de 40% o crescimento dessa estirpe.

Apesar dos efeitos nocivos do fomesafen às bactérias quando em contato direto, esse herbicida tem pouca ou nenhuma translocação na planta (OLIVEIRA JR., 2001), uma vez que não se move pelo floema (VIDAL, 2002). Desta forma, espera-se que não deve atingir os nódulos na forma ativa. Porém, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conta disso, entrar em contato com o sistema radicular e conseqüentemente com os nódulos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate sobre a nodulação e acúmulo de biomassa em duas cultivares de soja RR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542m de altitude, segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 10 de dezembro de 2005 a 08 de março de 2006. Foram utilizadas duas variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes da Embrapa Soja em Londrina: BRS 245 RR e BRS 247 RR.

A cultivar BRS 245 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação semi-precoce, com ciclo total de 123 a 143 dias e é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É originada do cruzamento das linhagens BRS 133 e E96-246. A cultivar BRS 247 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação médio, com ciclo total de 124 a 145 dias, é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É proveniente do cruzamento das linhagens BRS 134, Embrapa 59 e E96-246.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 1. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3×10^9 rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as

plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 1 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

pH		Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C
CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³			g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa			Areia fina			Silte		Argila		
g kg ⁻¹										
370			320			80		230		

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá - PR.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as duas variedades de soja RR e seis modalidades de aplicação (MA) de herbicidas. Os níveis das MA com herbicida foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de fomesafen: 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen + fluazifop-p-butyl]: 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação única de fluazifop-p-butyl: 0,125 kg i.a. ha⁻¹ (20 DAE); aplicação única de glyphosate: 0,720 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) e aplicação seqüencial de glyphosate: 0,540/0,360 kg EA ha⁻¹ (12/24 DAE).

As doses dos herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butyl estão em kg de ingrediente ativo por hectare e as doses de glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfonometil) glicina – glyphosate por hectare. Foi adicionado Energic à calda de pulverização na concentração de 0,2% (v/v) nas aplicações com os herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butyl, de acordo com a recomendação do fabricante. Os dados referentes aos herbicidas, doses, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja (FEHR; CAVINESS, 1971) são mostradas na Tabela 2.

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçadas a 50 cm entre si, posicionada na

altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião da aplicação de 12 DAE, a temperatura estava a 25°C, umidade relativa do ar (U.R.%) em 72%, solo úmido, velocidade do vento de 5 km⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade, para aplicação de 20 DAE a temperatura era de 21°C, U.R.% = 81%, solo úmido, velocidade do vento de 1 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas; para aplicação de 24 DAE a temperatura era de 28°C, U.R.% = 70%, solo úmido, velocidade do vento de 8 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Tabela 2 – Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja.

MA ^{1/} /Herbicida	Dose ^{2/}	Época de aplicação	Estádio da Soja
Testemunha	-	-	-
Seqüencial de Fomesafen ^{3/}	0,125/0,125	12/24 DAE	V3/V5
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil] ^{4/}	0,125/[0,125+0,125]	12/24 DAE	V3/V5
Dose Única de Fluazifop-p-butil ^{5/}	0,125	20 DAE	V4
Dose Única de Glyphosate ^{6/}	0,720	20 DAE	V4
Seqüencial de Glyphosate ^{6/}	0,540/0,360	12/24 DAE	V3/V5

^{1/} MA: Modalidade de aplicação

^{2/} Doses de Fomesafen e Fluazifop-p-butil em kg i.a. ha⁻¹/Doses de Glyphosate em kg EA ha⁻¹

^{3/} Produto comercial Flex

^{4/} Produto comercial Fusiflex

^{5/} Produto comercial Fusilade

^{6/} Produto comercial Roundup Transorb

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estágio R3, as plantas de soja foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foi avaliada matéria seca de parte aérea, do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do arranjo fatorial, foram analisados os efeitos isolados de modalidades de aplicação dos herbicidas e os desdobramentos da interação entre as modalidades de aplicação e as cultivares.

Os resultados do efeito isolado das modalidades de aplicação dos herbicidas mostraram influência sobre as variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN), os quais são mostrados na Tabela 3. A variável MSSR foi afetada negativamente pelos tratamentos com dose única de fluazifop e glyphosate apresentando reduções de 14,55 e 9,94%, respectivamente, para esses tratamentos.

Tabela 3 – Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Modalidade de Aplicação/Herbicida	MSSR	MSPA	MSNT	NN
Testemunha	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
Seqüencial de Fomesafen	95,37 a	95,84 a	90,21 a	87,09 b
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,48 a	94,99 a	88,92 a	82,54 b
Dose Única de Fluazifop-p-butil	85,45 b	93,63 a	72,11 b	71,78 b
Dose Única de Glyphosate	90,06 b	89,66 a	76,15 b	72,88 b
Seqüencial de Glyphosate	93,94 a	95,86 a	87,77 a	83,92 b

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

A aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop] não reduziu significativamente a MSSR, ao passo que a dose única de fluazifop reduziu esta variável. Esperava-se que o efeito de redução causado pelo fluazifop no tratamento com aplicação única se repetisse no tratamento com aplicação

seqüencial junto com fomesafen, o que não aconteceu. Uma possibilidade para isso é que as formulações dos herbicidas podem influenciar nos efeitos causados pelos mesmos. Malkones (2000) inferiu que os aditivos presentes na formulação dos agroquímicos podem afetar os microrganismos e, em certos casos, até modificar o efeito dos agroquímicos. Segundo Kishinevsky et al. (1988), é possível que solventes, surfatantes e agentes molhantes presentes nas formulações comerciais de herbicidas contribuam para os efeitos inibitórios desses produtos no crescimento de estirpes de rizóbios. Além disso, a última aplicação seqüencial de [fomesafen+ fluazifop] foi realizada quatro dias mais tarde do que a aplicação de fluazifop em dose única, o que pode ter levado ao incremento na tolerância ou na capacidade de metabolização das plantas.

Já, o fato da aplicação seqüencial de glyphosate não ter causado redução significativa na MSSR pode estar associado tanto às épocas de aplicação quanto às doses de glyphosate, como encontrado por Reddy e Zablutowicz (2003) em trabalho realizado com glyphosate, onde as épocas de aplicação influenciaram nas variáveis estudadas. A variável matéria seca da parte aérea (MSPA) não foi influenciada significativamente por nenhuma das modalidades de aplicação com herbicidas. Este fato demonstra a esperada seletividade dos herbicidas em relação à planta, porém isto não os isenta dos efeitos causados nas outras variáveis.

Os mesmos dois tratamentos que causaram redução na MSSR também diminuíram a MSNT. Essa redução foi de 27,89 e 23,85% para fluazifop e glyphosate, respectivamente. Da mesma forma, as aplicações seqüenciais que contêm esses dois ingredientes ativos não causaram redução nessa variável. A hipótese levantada para a MSSR é igualmente aplicável para explicar os resultados encontrados para esta MSNT.

O número de nódulos acumulados (NN) foi reduzido em todos os tratamentos com herbicidas em relação à testemunha sem aplicação. As reduções variaram entre 12,81 e 28,22% para fomesafen em dose única e fluazifop em dose única, respectivamente. A resposta desta variável aos tratamentos diferiu das respostas encontradas para as outras duas variáveis afetadas significativamente.

Herbicidas como o fluazifop e o glyphosate possuem ação sistêmica nas plantas, isto é, quando aplicados à parte aérea das mesmas podem se

translocar até as raízes. Tais herbicidas e seus metabólitos podem, portanto, entrar em contato direto com os simbiontes da raiz. Embora não haja relatos sobre a toxicidade de fluazifop em relação a esses organismos, inúmeros autores (KAPUSTA; ROUWENHORST, 1973; ALAGAVADI; REDDY, 1986; KISHINEVSKY et al., 1988; DELANNAY et al., 1995; REDDY et al., 2004) descreveram o efeito tóxico sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio, o que pode ter sido a causa da redução do número de nódulos nos tratamentos que continham esses herbicidas. O fomesafen é considerado um herbicida de contato (OLIVEIRA JR., 2001; VIDAL, 2002), sendo de pouca ou nenhuma mobilidade. No entanto, mesmo não havendo translocação significativa deste herbicida para o sistema radicular, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conseqüência, entrar em contato com o sistema radicular ou diretamente com os nódulos. Esta possibilidade é reforçada pelo fato de que a toxicidade do fomesafen para espécies de rizóbios já foi demonstrada por testes *in vitro* (SANTOS et al., 2006).

O fato de ter havido redução no número de nódulos e não ter ocorrido o mesmo para MSNT no tratamento com glyphosate em aplicação seqüencial explica-se pela época de aplicação do produto. De forma que a aplicação de 0,54 kg EA ha⁻¹ de glyphosate aos 12 DAE reduziu a quantidade de nódulos formados nesta primeira etapa da nodulação, ao passo que a segunda aplicação de glyphosate foi menos nociva à nodulação, já que a dose foi menor (0,36 kg EA ha⁻¹), permitindo desta forma que a planta compensasse a quantidade de nódulos não-formados na primeira etapa com nódulos de maior massa individual nessa segunda etapa de formação.

Ao analisar o desdobramento da interação entre as cultivares e modalidades de aplicação de herbicidas (Tabela 4), pode-se observar fatos específicos de relevância.

A única diferença significativa entre as cultivares foi encontrada para matéria seca do sistema radicular na aplicação de dose única de fluazifop, para a qual a cultivar BRS 245 RR demonstrou maior tolerância em relação à cultivar BRS 247 RR.

A cultivar BRS 247 RR teve a matéria seca do sistema radicular reduzida apenas pela aplicação em dose única de fluazifop. A matéria seca dos nódulos acumulados foi reduzida pelas duas aplicações em dose única, tanto

de fluazifop, quanto de glyphosate. O número de nódulos foi reduzido pelas duas aplicações que continham fluazifop, além da aplicação em dose única de glyphosate. A cultivar BRS 245 RR não teve redução em nenhuma das variáveis analisadas por nenhuma das modalidades de aplicação.

Tabela 4 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas.

Modalidade de aplicação/ Herbicida	MSSR		MSPA		MSNT		NN	
	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR
	%							
Testemunha	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA
Seqüencial de Fomesafen	91,29aA	99,44aA	98,27aA	93,41aA	86,88aA	93,55aA	86,49aA	87,69aA
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,94aA	92,01aA	95,15aA	94,83aA	88,44aA	89,40aA	80,55bA	84,53aA
Dose Única de Fluazifop-p-butil	80,44bB	90,46aA	93,10aA	94,17aA	73,71bA	70,51aA	75,28bA	68,27aA
Dose Única de Glyphosate	89,57aA	90,55aA	88,15aA	91,16aA	70,96bA	81,34aA	65,04bA	80,72aA
Seqüencial de Glyphosate	91,62aA	96,25aA	96,19aA	95,52aA	88,32aA	87,21aA	87,53aA	80,30aA

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas linhas (para uma mesma variável-resposta) não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de significância

Os resultados demonstram que existe diferença entre as cultivares em relação às aplicações. A cultivar BRS 247 RR é menos tolerante aos tratamentos aqui apresentados do que a cultivar BRS 245 RR. A modalidade de aplicação e a dose de ingrediente ativo são importantes fatores no efeito causado pelos herbicidas sobre a nodulação e desenvolvimento da planta. A variável número de nódulos foi a mais afetada pelos tratamentos. A variável matéria seca da parte aérea não foi reduzida por nenhum dos tratamentos em nenhuma das cultivares.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, v. 20, p. 27-30, 1986.

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

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS, C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, v. 35, p. 1461-1467, 1995.

DUKE, S.O. Glyphosate. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1988. p.1-70.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, v. 119, p. 15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 404-407, 2001a.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 408-412, 2001b.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

HONEGGER, J.L.; BROOKS, J.M.; ANDERSON, E.J.; PORTER, C.A.. Glyphosate transport in plants. In: CRONSHAW, J. (Ed.) **Phloem transport**. New York: Liss, 1986. p.609-618.

HUNGRIA, M; CAMPOS, R.J.; VARGAS, M.A.T.; CATTELAN, A.J.; MENDES, I.C. Microbiologia do solo e produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa, 1999. p.126-137.

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

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, v. 65, p. 112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, v. 28, p. 291-196, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of double-crop glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to broadleaf herbicides. **Weed Technology**, v. 15, p. 300-305, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect of soybean-rhizobia symbiosis. **Plant Soil**, v. 85, p. 33-41, 1985.

MALKONES, H.P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities - a review. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 8, n. 5, p. 781-789, 2000.

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

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

McWHORTER, C.G.; JORDAN, T.N.; WILLS, G.D. Translocation of 14C-glyphosate in soybean (*Glycine max*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, v. 28, p. 113-118, 1980.

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

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

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

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS J.B.; JACQUES, R.J.S.; KASUYA, M.C.M.; SILVA, A.A.; WERLANG, R.C. Crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium* sob influência dos herbicidas glyphosate potássico, fomesafen, imazethapyr e carfentrazone-ethyl. **Revista Ceres**, v. 51, n. 294, p. 179-188, 2004.

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**, v. 2, p. 37-52, 2000.

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

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

ROYUELA, M.; GONZALEZ, A.; ARRESE-IGOR, C.; APARICIO-TEJO, P.M.; GONZALEZ-MURUA, C. Imazethapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with pea. **Pesticide Science**, v. 52, p. 372-380, 1998.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VIDAL, R.A. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: **Ação dos herbicidas: absorção, translocação, e metabolização**. Porto Alegre: Evangraf, 2002. p.60-70.

WICHERT, R.A.; TALBERT, R.E. Soybean [*Glycine max* (L.)] response to lactofen. **Weed Science**, v. 41, p. 23-27, 1993.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

CONCLUSÕES

- O herbicida glyphosate causou reduções de matéria seca da parte aérea, matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- O herbicida fluazifop e a mistura [fluazifop+fomesafen] causaram redução de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- As variáveis-resposta analisadas são dependentes de diferentes fatores presentes neste trabalho.
- As cultivares têm reações diferenciadas entre si para as diferentes modalidades de aplicação utilizadas neste trabalho.
- As modalidades de aplicação causam diferentes efeitos dentro de uma mesma cultivar de soja.
- Mesmo que não haja danos visuais na parte aérea das plantas pode ocorrer perda de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e redução no número de nódulos.
- Cultivares de ciclo precoce apresentaram maior número de nódulos.
- Cultivares BRS apresentaram melhores resultados de nodulação.

APÊNDICE

Tabela 1A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	19	1000,09**	307,96 ^{ns}	1315,60**	1832,28**
Modalidade de Aplicação (MA)	4	8502,58**	4696,36**	16773,11**	24227,46**
Cv x MA	76	214,33 ^{ns}	100,62 ^{ns}	293,45 ^{ns}	391,66 ^{ns}
Cv/Test	19	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/SI	19	386,11 ^{ns}	226,46 ^{ns}	271,66 ^{ns}	338,51 ^{ns}
Cv/DUI	19	326,30 ^{ns}	210,12 ^{ns}	588,82 ^{ns}	646,38**
Cv/SII	19	620,91**	108,64 ^{ns}	657,34 ^{ns}	941,60**
Cv/DUII	19	524,09**	165,20 ^{ns}	971,58**	1472,43**
MA/BRS245 RR	4	997,46**	247,44 ^{ns}	634,42 ^{ns}	538,28 ^{ns}
MA/MSOY8151 RR	4	326,09 ^{ns}	197,16 ^{ns}	405,72 ^{ns}	544,22 ^{ns}
MA/AL83TROPICAL RR	4	406,97 ^{ns}	515,72**	903,62 ^{ns}	1524,08**
MA/CD214 RR	4	141,65 ^{ns}	186,27 ^{ns}	554,78 ^{ns}	1077,35**
MA/BRS242 RR	4	502,02 ^{ns}	197,40 ^{ns}	1000,76 ^{ns}	1082,09**
MA/BRS244 RR	4	483,78 ^{ns}	358,82 ^{ns}	697,89 ^{ns}	905,25**
MA/CD219 RR	4	499,26 ^{ns}	367,14 ^{ns}	1158,01**	1631,73**
MA/MSOY8008 RR	4	659,32**	639,89**	1450,88**	2191,80**
MA/ANTA RR	4	926,53**	155,04 ^{ns}	1550,50**	1851,00**
MA/BRS243 RR	4	143,38 ^{ns}	90,17 ^{ns}	344,01 ^{ns}	638,03 ^{ns}
MA/MSOY6001 RR	4	1128,68**	471,49 ^{ns}	1778,37**	1854,63**
MA/CRISTALINA RR	4	650,96**	510,74**	1154,12**	1154,51**
MA/BRS247 RR	4	1703,50**	485,87**	737,11 ^{ns}	1210,00**
MA/MSOY9000 RR	4	148,17 ^{ns}	211,22 ^{ns}	438,05 ^{ns}	934,10 ^{ns}
MA/CD213 RR	4	1352,89**	461,10**	3897,22**	4964,87**
MA/MSOY8100 RR	4	966,61**	296,45 ^{ns}	1411,96**	2288,76**
MA/VALIOSA RR	4	532,58 ^{ns}	489,76**	1221,49**	1599,76**
MA/MSOY8000 RR	4	460,80 ^{ns}	348,46 ^{ns}	1276,54**	2114,36**
MA/BRS246 RR	4	150,35 ^{ns}	131,16 ^{ns}	588,90 ^{ns}	944,08 ^{ns}
MA/NI	4	393,90 ^{ns}	246,74 ^{ns}	1144,26**	2620,12**
Blocos	6	1535,81	2681,93	11535,51	37445,05
Resíduo	594	257,95	200,86	445,61	431,95
Total	699				
CV(%)		18,56	15,76	26,19	27,12
Média Geral		86,53	89,95	80,59	76,62

**Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	1	304,91**	1,80 ^{ns}	109,30 ^{ns}	25,42 ^{ns}
Modalidade de Aplicação (MA)	5	339,56**	159,27 ^{ns}	1442,56**	1498,30**
Cv x MA	5	72,29 ^{ns}	23,72 ^{ns}	93,91 ^{ns}	250,13 ^{ns}
Cv/1	1	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/2	1	232,96 ^{ns}	82,66 ^{ns}	155,77 ^{ns}	4,99 ^{ns}
Cv/3	1	3,03 ^{ns}	0,35 ^{ns}	3,25 ^{ns}	55,44 ^{ns}
Cv/4	1	352,10**	4,05 ^{ns}	36,03 ^{ns}	172,13 ^{ns}
Cv/5	1	3,35 ^{ns}	31,77 ^{ns}	376,48 ^{ns}	860,20 ^{ns}
Cv/6	1	74,39 ^{ns}	1,56 ^{ns}	4,31 ^{ns}	183,31 ^{ns}
MA/BRS245 RR	5	133,43 ^{ns}	60,36 ^{ns}	730,53 ^{ns}	756,98 ^{ns}
MA/BRS247 RR	5	278,42**	122,63 ^{ns}	805,33**	991,45**
Blocos	6	105,13	190,61	455,60	559,32
Resíduo	66	70,96	67,19	293,31	338,84
Total	83				
CV(%)		9,07	8,63	19,95	22,17
Média Geral		92,88	94,99	85,86	83,03

1= Testemunha sem aplicação

2= Aplicação seqüencial de fomesafen/fomesafen

3= Aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop]

4= Aplicação em dose única de fluazifop

5= Aplicação em dose única de glyphosate

6= Aplicação seqüencial de glyphosate/glyphosate

** Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO –2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

APROVADA em 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Jamil Constantin

Prof. Dr. Robinson Luiz Contiero

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior
(Orientador)

Aos meus amados pais que me deram condições para chegar até aqui; sempre me apoiaram e fizeram de mim o que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo que está na Terra, Deus. Muito obrigado, oh! Pai por permitir que eu alcançasse este objetivo, por ter-me dado forças, perseverança e a certeza de que eu conseguiria, pois estou ao Seu lado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela imprescindível ajuda financeira.

Ao meu orientador, um obrigado mais que especial, Professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., que, honra como poucos o papel de professor e mestre; ajudou-me, apoiou-me, orientou-me, decepcionou-se e empolgou-se com fracassos e sucessos sempre ao meu lado, dando-me a garantia intelectual de que conseguiríamos.

Aos Professores Dr. Jamil Constantin, Dr. Carlos Alberto Scapim e Dr. Alessandro de Lucca e Braccini, pelo apoio e sugestões que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

À equipe de servidores do Laboratório de Plantas Daninhas – UEM – Maringá – PR., pois sem ela este trabalho não seria possível.

Aos colegas e amigos de Pós-graduação, pelo companheirismo e pela contribuição para meu crescimento intelectual.

Ao Luís Machado Homem e Milton Lopes da Silva por ajudarem sempre nos trabalhos a campo.

Aos verdadeiros amigos: Éder Blainski, Éverton Blainski, Rachel Muylaert Locks Guimarães e Sidnei Douglas Cavalieri pelo apoio e pelo ombro amigo nos momentos difíceis.

À minha família, em especial ao meu pai e minha mãe pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À minha querida namorada e amiga Márcia Maria Parente Santini, sempre presente, apoiando-me, incentivando-me e dando força nos momentos difíceis.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma cooperaram para o planejamento e execução deste trabalho.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN, filho de José Dvoranen e Amália Regina Dvoranen, nasceu na cidade de Marialva, Paraná, aos nove dias do mês de junho de 1980.

Em 2000, matriculou-se no Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Iniciou, no ano seguinte, com a participação em trabalhos de pesquisa com Plantas Daninhas, na orientação dos Professores Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. e Dr. Jamil Constantin.

Graduou-se em março de 2005 e no mesmo mês iniciou o Curso de Pós-graduação em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá – Maringá - PR.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	2
INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR	2
Resumo	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 MATERIAL E MÉTODOS	6
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	26
EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR.	26
Resumo	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	40
CONCLUSÕES	44
APÊNDICE	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência ...	6
Tabela 2	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	7
Tabela 3	Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha ⁻¹ , épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja	8
Tabela 4	Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação	10
Tabela 5	Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	12
Tabela 6	Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	14
Tabela 7	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	16
Tabela 8	Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	18
Tabela 9	Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	20
Tabela 1	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	33
Tabela 2	Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja	34

Tabela 3	Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	36
Tabela 4	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas	39
Tabela 1A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1	46
Tabela 2A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2	47

RESUMO

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2007. **Impacto do glyphosate sobre soja (*Glycine max* (L.) Merrill) transgênica e sua simbiose com *Bradyrhizobium spp.*** Orientador: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-orientador: Dr. Jamil Constantin.

Foi realizado um estudo envolvendo dois experimentos em casa de vegetação, com soja transgênica resistente ao herbicida glyphosate (RR), com o objetivo de determinar e quantificar efeitos do herbicida glyphosate sobre as plantas de soja e seu simbiote: *Bradyrhizobium spp.* O primeiro experimento foi realizado com 20 cultivares de soja RR e cinco modalidades de aplicação do herbicida glyphosate. O segundo experimento contou com duas cultivares de soja RR e seis modalidades de aplicação com os herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate. Em ambos os experimentos, foram avaliados massa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). No primeiro experimento, o glyphosate mostrou-se inibitório para todas as variáveis analisadas em pelo menos uma das cultivares testadas. A variável mais prejudicada pelas aplicações de glyphosate foi NN, posteriormente MSNT, MSSR e MSPA, com apenas seis das 20 cultivares testadas apresentando alguma redução. Os resultados sugerem que o efeito sobre MSSR é mais dependente da modalidade de aplicação do que da dose. O efeito dos tratamento sobre MSPA depende do grupo de maturação das cultivares e da modalidade de aplicação, sendo menos evidente sobre cultivares precoces e aplicações em dose única. MSNT e NN são dependentes do material genético e do grupo de maturação em questão. No segundo experimento, os herbicidas fluazifop e glyphosate causaram redução nas variáveis MSSR, MSNT e NN em apenas uma das cultivares testadas.

Palavras-chave: fixação biológica do N₂, herbicida, nodulação, Rhizobium

ABSTRACT

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, February, 2007. **Impact of glyphosate on glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp.** Adviser: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-adviser: Dr. Jamil Constantin.

A two-assay greenhouse study was conducted, with the objective of investigating and estimating the effects of the herbicide glyphosate both over glyphosate-resistant (GR) initial growth and over its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp. The first assay was conducted with 20 GR cultivars and five modalities of glyphosate application. The second one was composed by two cultivars of GR soybean and six combinations of herbicide application including the herbicides fluazifop, fomesafen and glyphosate. For both assays, evaluations included root, shoot and nodules dry weight and number of nodules per plant. Glyphosate inhibited all plant growth parameters for at least one of the cultivars evaluated in the first experiment. The most sensitive parameter to glyphosate injuries was the number of nodules, followed by nodule dry weight, root dry weight, and shoot dry weight, showing only six of the twenty cultivars with reductions for at least one modality of glyphosate application. Results lead to the conclusion that the effect of glyphosate on root dry weight depends more upon modality of application than upon the applied rate. The effect of treatments on shoot dry weight depends upon maturation group and modality of herbicide application, being less evident for precocious cultivars and single herbicide applications. Nodule dry weight and number of nodules depend upon genetics and group of maturation. In the second experiment, the herbicides glyphosate and fluazifop provide reductions of root and nodule dry weight, as well as number of nodules in only of the two cultivars evaluated.

Key words: biological nitrogen fixation, herbicide, nodulation, Rhizobium

INTRODUÇÃO

A soja é a cultura que ocupa a maior área plantada no Brasil e é uma das principais culturas do mundo. Atualmente, os líderes mundiais na produção de soja são os Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, Índia e Paraguai. Esta cultura ocupa importante papel socioeconômico no cenário mundial e está se desenvolvendo tecnologicamente cada vez mais, em busca de melhores resultados de produtividade e lucratividade. Com o advento de novas técnicas de biotecnologia, foram criados diversos organismos geneticamente modificados (OGM). Dentre eles está a soja transgênica, que desde 1996 é cultivada nos Estados Unidos e desde 1997 na Argentina. Atualmente, o Brasil e diversos outros países também empregam a mesma tecnologia.

Atualmente, há diversos tipos de sojas transgênicas em fase de desenvolvimento. A principal delas é uma planta que recebeu um gene de outro organismo capaz de torná-la tolerante ao uso do glyphosate (RR). Esse gene foi extraído de uma bactéria do solo, conhecida por *Agrobacterium sp.*, e patenteadado por uma empresa privada com o nome CP4-EPSPS. Estruturalmente, é muito parecido com os genes que compõem o genoma de uma planta. Após inserido no genoma da soja tornou-se uma planta resistente à aplicação do herbicida.

Por se tratar de uma tecnologia muito nova, há poucos trabalhos, no mundo e, principalmente, no Brasil que estudam as características dessas plantas e sua ecofisiologia. Portanto, é necessário que se saiba cada vez mais sobre seu desenvolvimento e sua relação com o ambiente em que ela está inserida, avaliando-se todos os aspectos relacionados ao seu cultivo.

Esse trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de soja RR sob diversas modalidades de aplicação de glyphosate e outros herbicidas usados no manejo de plantas daninhas na soja, com ênfase no desenvolvimento inicial das plantas e na nodulação por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR.

RESUMO. A soja resistente ao glyphosate (RR) é uma tecnologia que vem acrescentar mais uma ferramenta no manejo de plantas daninhas para a cultura com a maior área plantada em nosso país. Por se tratar de uma técnica muito recente tanto em nosso país quanto no mundo, necessitam-se de estudos que busquem informações úteis para o uso correto desta importante e cada vez mais freqüente prática agrícola: o cultivo de soja transgênica. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de glyphosate sobre 20 cultivares de soja RR. As doses utilizadas foram: Testemunha sem herbicida; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,54/0,36 kg equivalente ácido (EA) ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE); glyphosate em aplicação única de 0,72 kg EA ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,72/0,54 kg ha⁻¹, aos 12/24 DAE; glyphosate em aplicação única de 0,90 kg ha⁻¹, aos 24 DAE. Foram avaliadas as variáveis: matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). As cultivares que demonstraram maior suscetibilidade às aplicações de glyphosate foram: MSOY 8008 RR, ANTA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, CD 219 RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR e BRS 247 RR apresentando reduções de pelo menos três das quatro variáveis estudadas. BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 246 RR, CD 214 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e BRS 245 RR foram as mais tolerantes, pois não sofreram reduções significativas em nenhuma ou apenas em uma das variáveis avaliadas. De modo geral, a MSSR foi mais afetada pela modalidade de aplicação do que pela dose de glyphosate; por outro lado, a MSPA e a nodulação foram mais afetadas em cultivares de ciclo mais longo em relação às variedades de ciclo precoce. A nodulação também foi menos afetada pelo glyphosate em variedades do grupo BRS em relação aos demais materiais genéticos.

1 INTRODUÇÃO

Glyphosate é um herbicida não-seletivo, de amplo-espectro, aplicado em pós-emergência, que controla uma grande gama de plantas daninhas, tais como: plantas de folhas largas, folhas estreitas e ciperáceas (FRANZ et al., 1997). Esse herbicida inibe a síntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas e microrganismos que possuem o ciclo do ácido chiquímico (JAWORSKI, 1972; FISHER et al., 1986). O mecanismo de ação do glyphosate é quase exclusivo, uma vez que apenas ele e o sulfosate inibem especificamente a enzima EPSPS que catalisa a condensação do ácido chiquímico à fosfoenolpiruvato (OLIVEIRA JR., 2001).

Os efeitos tóxicos do glyphosate podem ser atribuídos à (1) incapacidade dos organismos sintetizarem aminoácidos aromáticos; (2) ao dreno energético no organismo resultante da fosfoenolpiruvato (PEP) que gasta no acúmulo do chiquimato, 3-deoxy-D-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP) e ácidos hidroxibenzóicos; e (3) toxicidade dos intermediários do ciclo do ácido chiquímico acumulados (FISHER et al., 1986).

Porém, nem todos os organismos respondem da mesma forma a esse e a outros herbicidas, como foi constatado por Kapusta e Rouwenhorst (1973), Alagavadi e Reddy (1986), Kishinevsky et al. (1988) e Delannay et al. (1995). Santos et al. (2004) estudaram os efeitos de formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,00026 mM do equivalente ácido (EA) e constataram diferenças entre as estirpes de rizóbios assim como entre as formulações de glyphosate. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Estudos desenvolvidos por Moorman et al. (1992) mostraram inibição diferencial de crescimento entre estirpes de *B. japonicum* expostas a doses de 0,5 mM de glyphosate e à inibição de todas as estirpes testadas quando a dose foi elevada para 5 mM.

Nos Estados Unidos, centenas de variedades de soja transgênica resistentes ao glyphosate (RR), de diferentes grupos de maturação, encontram-se disponíveis no mercado. Segundo Zablutowicz e Reddy (2004), as respostas fisiológicas dessas variedades às aplicações de glyphosate podem variar em função de fatores como localização geográfica, condições ambientais, tipos de solo, população de rizóbios e outros fatores.

Efeitos do glyphosate na nodulação de variedades RR foram amplamente estudados por Reddy et al. (2000) e King et al. (2001). Em ambos estudos, vários parâmetros relacionados à nodulação em soja RR foram significativamente reduzidos pela aplicação de doses de glyphosate; entretanto, os resultados foram inconsistentes entre os estudos. Os estudos de Reddy et al. (2000) avaliaram os efeitos das aplicações foliares de duas doses de glyphosate (sal de isopropilamina) sobre a nodulação. Os resultados mostraram redução do número de nódulos, massa de nódulos e conteúdo de leghemoglobina para a dose de 0,84 kg de EA ha⁻¹. Porém, para o dobro desta dose não foram encontradas diferenças entre as plantas tratadas com glyphosate e as não-tratadas. Num segundo estudo desenvolvido por Reddy et al. (2000), constatou-se que aplicações em estádios precoces de desenvolvimento da soja (V1 e V3) não causaram efeitos nos parâmetros de nodulação avaliados, independente da dose aplicada. Entretanto, a aplicação mais tardia de 1,68 kg EA ha⁻¹ (três semanas após a semeadura) reduziu o número de nódulos, massa de nódulos, conteúdo de leghemoglobina e nitrogênio total da parte aérea.

Nos estudos de King et al. (2001), aplicações precoces de glyphosate (1,26 kg de EA ha⁻¹) aos cinco e 12 dias, após a emergência (DAE) (V1 e V2, respectivamente) diminuíram significativamente o acúmulo de biomassa nos nódulos em comparação com a testemunha sem aplicação aos 19 DAE em um dos dois estudos, porém o conteúdo de nitrogênio na parte aérea foi reduzido em ambos os estudos, em 34 e 36%. Aplicações mais tardias, aos 18, 25 e 32 DAE, não afetaram a biomassa de nódulos.

Efeitos negativos sobre o crescimento do sistema radicular de soja transgênica RR também foram observados em vários experimentos em casa de vegetação tanto em plantas dependentes da fixação simbiótica quanto em

plantas nutridas com fertilizante nitrogenado (REDDY et al., 2000; KING et al., 2001).

Apesar de tudo, em diversas avaliações feitas a campo por autores como Delannay et al. (1995), Gonzini et al. (1999), Nelson e Renner (1999), Reddy e Whiting (2000), Elmore et al. (2001), Krausz e Young (2001) e Reddy (2001) não foram encontradas reduções de produtividade de grãos relacionada à aplicação de glyphosate sobre variedades de soja RR.

No Brasil, o plantio foi legalmente autorizado em setembro de 2003, pela Medida Provisória nº 131, que no mesmo ano foi convertida na Lei nº 10.184, de 15 de dezembro de 2003. No entanto, a liberação para cultivo e comercialização gerou e ainda gera polêmica. Apesar dos impasses legais, segundo o relatório anual de 2006 do Serviço Internacional para a Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia (ISAAA), no Brasil, a área plantada com soja transgênica na safra 2005/06 foi de 11,4 milhões de hectares, ocupando a terceira posição entre os países que mais cultivam transgênicos no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina. Atualmente, o Brasil conta com aproximadamente 90 variedades de soja RR, de várias empresas de sementes, disponíveis para plantio. Entretanto, poucos estudos sobre os efeitos do glyphosate sobre variedades RR cultivadas, no Brasil, foram desenvolvidos. Há, desta forma, uma lacuna de conhecimento a respeito do comportamento destas variedades em relação ao glyphosate.

Deste modo, esse estudo tem como objetivo avaliar, em condições de casa de vegetação, a influência do glyphosate sobre a nodulação e o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular em 20 variedades de soja transgênica RR cultivadas no país.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 19 de dezembro de 2005 a 25 de março de 2006.

No trabalho, foram avaliadas 19 variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes das regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil e uma proveniente da Argentina. As variedades utilizadas foram BRS 245 RR; MSOY 8151 RR; AL 83 TROPICAL RR; CD 214 RR; BRS 242 RR; BRS 244 RR; CD 219 RR; MSOY 8008 RR; ANTA RR; BRS 243 RR; MSOY 6001 RR; CRISTALINA RR; BRS 247 RR; MSOY 9000 RR; CD 213 RR; MSOY 8100 RR; VALIOSA RR; MSOY 8000 RR; BRS 246 RR; Não Identificada (NI). As cultivares, grupos de maturação e respectivas procedências são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência.

Variedade	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR
Grupo de maturação	Semiprecoce	Semitardio	Semitardio	Precoce	Precoce	Semiprecoce	Médio	Semitardio	-	Precoce
Procedência	Toledo PR	Goiânia GO	Rondonópolis MT	Toledo PR	Toledo PR	Toledo PR	Jataí GO	Goiânia GO	Ponta Grossa PR	Toledo PR
Variedade	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALIOSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI*
Grupo de maturação	Precoce	Tardio	Médio	Tardio	Precoce	Semitardio	Tardio	Semitardio	Semiprecoce	-
Procedência	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Ponta Grossa PR	Ponta Grossa PR	Adamantina SP	Goiânia GO	Toledo PR	Argentina

* NI: Obtida através de produtor rural que não soube informar de que variedade se tratava.
- Dados não-disponíveis.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 2. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3x10⁹ rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 2 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

Ph	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C	
CaCl ₂	H ₂ O	cmolc dm ⁻³						mg dm ⁻³	g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte		Argila			
g kg ⁻¹										
370		320			80		230			

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as 20 variedades de soja RR e cinco modalidades de aplicação de glyphosate. Os níveis das aplicações com glyphosate foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,54/0,36 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial I); aplicação única de glyphosate: 0,72 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) (dose única I); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,72/0,54 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial II); e

aplicação única de glyphosate: 0,90 kg EA ha⁻¹ (24 DAE) (dose única II). As doses das aplicações com glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate por hectare. A lista com as modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação de glyphosate e estádios de desenvolvimento da soja é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja.

Modalidade de aplicação	Dose em kg EA ha ⁻¹	Época de aplicação	Estádio da soja
Testemunha sem aplicação	-	-	-
Aplicação Sequencial I (SI)	0,54/0,36	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única I (DUI)	0,72	20 DAE	V4
Aplicação Sequencial II (SII)	0,72/0,54	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única II (DUII)	0,90	24 DAE	V5

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçados a 50 cm entre si, posicionada na altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião das aplicações, as condições de temperatura estavam entre 23 e 29°C, umidade relativa do ar entre 74 e 89%, solo úmido, velocidade do vento entre 5 e 10 km h⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estádio R3, as plantas foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C

até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foram avaliados matéria seca de parte aérea e do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000). Posteriormente, as cultivares foram agrupadas por materiais genéticos, grupos de maturação e modalidades de aplicação e submetidas a testes por contrastes. Os contrastes desenvolvidos foram:

$$\begin{aligned}\hat{C}_1 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} \\ &- \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000}; \\ \hat{C}_2 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} - 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_3 &= \hat{\mu}_{MSOY6001} + \hat{\mu}_{MSOY8000} + \hat{\mu}_{MSOY8008} + \hat{\mu}_{MSOY8100} + \hat{\mu}_{MSOY8151} + \hat{\mu}_{MSOY9000} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} \\ &- 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_4 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{CD213} + \hat{\mu}_{CD214} + \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{BRS247} - \\ &\hat{\mu}_{CD219} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} - \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000} - \hat{\mu}_{VALIOSA}; \\ \hat{C}_5 &= \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_6 &= \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_7 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_8 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_9 &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_{10} &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII};\end{aligned}$$

de modo que, \hat{C}_n é a estimativa do contraste e $\hat{\mu}$ é a média de cada tratamento.

As cultivares, as modalidades de aplicação e os respectivos contrastes formados estão mostrados na Tabela 4. O objetivo da comparação dos dados por contraste foi criar grupos com semelhanças entre si para facilitar a visualização dos efeitos das cultivares e dos tratamentos sobre as variáveis-resposta avaliadas.

Tabela 4 – Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação.

Contrastes			Componentes de cada grupo nos contrastes			
			Cultivares			
\hat{C}_1	Cultivares BRS	vs	Cultivares Monsoy	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR
\hat{C}_2	Cultivares BRS	vs	Cultivares CD	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_3	Cultivares Monsoy	vs	Cultivares CD	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_4	Cultivares precoces	vs	Cultivares não-precoces	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, CD 213 RR, CD 214 RR e MSOY 6001 RR	vs	BRS 247 RR, CD 219 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR e VALIOSA RR
Modalidades de aplicação						
\hat{C}_5	SI	vs	SII	0,54/0,36 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)	vs	0,72/0,54 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)
\hat{C}_6	DUI	vs	DUII	0,72 kg EA ha ⁻¹ (20 DAE)	vs	0,90 kg EA ha ⁻¹ (24 DAE)
\hat{C}_7	Seqüenciais	vs	Doses Únicas	SI e SII	vs	DUI e DUII
\hat{C}_8	Doses I	vs	Doses II	SI e DUI	vs	SII e DUII
\hat{C}_9	Testemunha	vs	Seqüenciais	Testemunha sem aplicação	vs	SI e SII
\hat{C}_{10}	Testemunha	vs	Doses Únicas	Testemunha sem aplicação	vs	DUI e DUII

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito de redução de matéria seca de nódulos totais (MSNT) acumulados (Tabela 5) em plantas das variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A variedade CRISTALINA RR teve sua MSNT afetada pelas duas modalidades de aplicação seqüencial (SI e SII) e pela dose única mais alta (DUII). A variedade CD 213 RR foi a que sofreu maior influência das aplicações de glyphosate em relação à testemunha. Para esta variedade, os tratamentos com dose maior (SII e DUII) reduziram em até 61,4% a MSNT, e os tratamentos com dose menor (SI e DUI) em até 35,8%. As variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram a MSNT reduzida em intensidade semelhante, em relação à testemunha, por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, DUI, SII e DUII), porém as aplicações herbicidas não diferiram entre si. As variedades BRS 245 RR, MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, BRS 247 RR, MSOY 9000 e BRS 246 RR não tiveram as suas respectivas MSNT afetadas por nenhuma das modalidades de aplicação quando comparadas com a testemunha.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença apenas na aplicação da maior dose única. As cultivares MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR e CD 213 RR apresentaram maior redução em relação às outras cultivares.

Jaworski (1972), Eberbach e Douglas (1989), Liu et al. (1991), Martensson (1992), Moorman et al. (1992), Hernandez et al. (1999), Reddy et al. (2000) encontraram efeitos de inibição de crescimento de rizóbios e nodulação em plantas de diversas espécies tratadas com glyphosate, cujos efeitos variaram de acordo com doses, espécies, e épocas de aplicação. Os resultados encontrados no presente trabalho se assemelham a esses resultados, e sugerem que as respostas às aplicações não são uniformes em relação aos materiais testados nem com relação à modalidade de aplicação.

Tabela 5 – Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca de Nódulos Totais Acumulados (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{3/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	83,7aA	89,6aA	72,1aA	85,1aA	78,8aA	79,1aA	82,7bA	73,1bA	78,2bA	82,0aA	74,9bA	70,7bA	77,3aA	85,2aA	72,2bA	66,0bA	71,4bA	70,4bA	74,3aA	71,9bA
DUI ^{6/}	78,1aA	80,9aA	90,3aA	92,4aA	66,9aA	73,5aA	70,6bA	81,5bA	62,3bA	84,5aA	69,3bA	86,6aA	81,3aA	91,0aA	64,2bA	71,1bA	70,9bA	72,5bA	86,6aA	73,6bA
SII ^{7/}	89,2aA	83,2aA	80,1aA	77,0aA	78,7aA	81,2aA	70,3bA	71,5bA	69,2bA	86,8aA	68,8bA	70,2bA	73,2aA	85,6aA	49,0cA	66,1bA	67,7bA	68,2bA	88,5aA	71,7bA
DUII ^{8/}	76,6aA	84,5aA	76,0aA	83,0aA	83,0aA	81,7aA	71,3bA	61,6bB	67,5bA	86,3aA	57,0bB	74,2bA	82,8aA	78,8aA	38,6cB	72,5bA	73,2bA	69,0bA	89,9aA	69,3bA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Bohrer e Hungria (1998) correlacionaram MSNT com a quantidade de nitrogênio total da parte aérea e encontraram correlações elevadas e significativas. Uma vez que o nitrogênio total obtido pela parte aérea das plantas é determinante na produtividade de grãos e no teor de proteínas dos mesmos e que este nitrogênio provém basicamente da atividade dos nódulos, é possível inferir que os resultados ora apresentados possam contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

O número de nódulos acumulados por vaso (NN) (Tabela 6) foi reduzido pelas quatro modalidades de aplicação em intensidade semelhante em relação às respectivas testemunhas para as cultivares AL 83 TROPICAL, CD 214 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A cultivar CD 213 RR foi a mais afetada pelas aplicações nesta variável, apresentando reduções de até 68,1% para as modalidades de aplicação com dose maior (SII e DUII), 39,8% para DUI e 28,3% para SI. BRS 242 RR apresentou redução em todas as modalidades de aplicação, com exceção da DUII. Uma hipótese para essa resposta diferencial para a dose única maior pode ser a diferença de quatro dias em relação à aplicação da DUI.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença nas aplicações com dose única (DUI e DUII) e na aplicação seqüencial com dose maior (SII). Na aplicação com dose única menor (DUI), as cultivares BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI apresentaram maior redução do número de nódulos em relação às outras cultivares. Na aplicação seqüencial com dose maior (SII), as cultivares CD 214 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram maior redução em relação às outras cultivares para esta variável. Para aplicação com dose única maior (DUII), formaram-se três grupos. As cultivares AL 83 TROPICAL RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8100 RR e MSOY 8000 RR formaram o grupo intermediário de redução para esta variável. Apresentando menor redução de número de nódulos em relação às cultivares CD 213 RR e NI e maior redução desta variável em relação às demais cultivares.

Tabela 6 – Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIETADE MA ^{3/}	Número de Nódulos Acumulados (%) ^{1/}																			
	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	82,6aA	80,8aA	67,1bA	74,3bA	79,5bA	72,3bA	74,5bA	66,5bA	68,1bA	75,6aA	76,1bA	67,9bA	67,1bA	81,0aA	71,7bA	56,5bA	69,1bA	59,9bA	68,6aA	65,2bA
DUI ^{6/}	79,3aA	79,7aA	80,2bA	82,3bA	74,0bA	72,3bB	70,2bB	71,7bB	60,8bB	83,6aA	63,2bB	79,8bA	77,9bA	82,4aA	60,2cB	64,4bB	60,9bB	60,2bB	92,2aA	63,6bB
SII ^{7/}	87,1aA	78,7aA	73,0bA	68,1bB	75,1bA	79,2bA	62,4bB	63,0bB	62,5bB	90,9aA	65,3bB	71,0bB	68,9bB	82,4aA	42,1dB	57,1bB	68,4bB	61,5bB	84,6aA	62,2bB
DUII ^{8/}	78,6aA	84,3aA	62,2bB	73,9bA	97,0aA	79,6bA	63,6bB	52,9bB	65,3bB	80,4aA	60,2bB	73,2bA	75,2bA	67,5aB	31,9dC	63,5bB	70,7bA	63,4bB	84,5aA	47,7bC

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Estudos realizados por Reddy et al. (2000) encontraram redução do número de nódulos em soja convencional tratadas com doses subletais de glyphosate e soja RR tratadas com doses de glyphosate variando de 1,12 a 2,24 kg EA ha⁻¹. Porém, estes efeitos variaram de acordo com época de aplicação e dose. Estes efeitos não se repetiram em trabalho realizado por Reddy e Zablotowicz (2003), os quais encontraram redução do acúmulo de matéria seca de nódulos sem que houvesse redução no número de nódulos acumulados em cultivares de soja RR tratadas com aplicações de 0,84 kg EA ha⁻¹ de vários saís de glyphosate.

A matéria seca do sistema radicular (MSSR) (Tabela 7) foi afetada por pelo menos uma das modalidades de aplicação de glyphosate nas variedades BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR e MSOY 8100 RR. A variedade ANTA RR teve a MSSR reduzida pelas duas modalidades de aplicação em dose única (DUI e DUII) em até 28,2% em relação à testemunha. A variedade MSOY 8100 RR apresentou redução (32,4%) de MSSR apenas na aplicação seqüencial com dose maior de glyphosate (SII). A cultivar CRISTALINA RR apresentou reduções de até 23,1% para ambas as aplicações seqüenciais (SI e SII). As cultivares BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR tiveram a MSSR reduzida em intensidade semelhante por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, SII, DUI e DUII) quando comparadas com suas respectivas testemunhas. As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246, VALIOSA e NI não tiveram MSSR afetada por nenhuma das modalidades de aplicação com glyphosate.

Comparando as cultivares, observa-se que as cultivares BRS 245 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR foram mais afetadas que as demais nas aplicações SII e DUII. A cultivar MSOY 8100 foi mais afetada que as demais, apenas na modalidade de aplicação seqüencial maior (SII). As cultivares CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR e VALIOSA RR tiveram a MSSR mais reduzida que as demais variedades apenas na modalidade de aplicação com dose única maior (DUII). As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246 RR e NI apresentaram produção de MSSR semelhantes entre si e superior em relação às demais cultivares.

Tabela 7 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca do Sistema Radicular (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	77,9bA	81,0aA	81,9aA	96,3aA	78,5aA	77,4aA	79,2aA	80,9bA	88,1aA	91,0aA	73,7Ba	85,1bA	65,8bA	89,6aA	71,3bA	86,4aA	89,2aA	84,2aA	91,1aA	81,9aA
DUI ^{6/}	84,9bA	88,9aA	96,7aA	95,4aA	80,1aA	88,7aA	84,3aA	87,0bA	73,9bA	91,1aA	79,1Ba	98,2aA	78,1bA	90,0aA	77,9bA	83,0aA	82,8aA	81,7aA	89,2aA	93,3aA
SII ^{7/}	69,6bB	87,7aA	94,6aA	87,7aA	86,6aA	83,6aA	82,1aA	77,0bA	86,6aA	87,9aA	78,7bA	76,9bA	59,5bB	89,0aA	62,7bB	67,6bB	81,7aA	79,2aA	89,1aA	85,6aA
DUII ^{8/}	73,6bB	90,4aA	85,8aA	93,9aA	86,0aA	88,3aA	80,7aB	76,7bB	71,8bB	92,4aA	65,7bB	90,5aA	71,0bB	90,6aA	74,2bB	89,2aA	77,7aB	86,6aA	95,0aA	84,2aA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Esses resultados concordam com os encontrados por King et al. (2001), quando estudaram o crescimento e a atividade da nitrogenase em diversas cultivares de soja RR e encontraram diferentes respostas das cultivares para a variável MSSR, ora diminuindo o acúmulo de matéria seca ora mantendo-o. Por outro lado, Reddy e Zablotowicz (2003) encontraram resultados que diferem dos obtidos neste trabalho e constataram a recuperação da planta tratada por glyphosate 14 dias após a aplicação, equiparando sua MSSR com a da testemunha sem herbicida.

Em relação ao acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 8), pouco se observou de redução significativa das modalidades de aplicação em relação às respectivas testemunhas. De modo geral, as modalidades de aplicação de glyphosate tiveram menor efeito sobre a MSPA do que sobre a MSSR. Reduções significativas da MSPA ocorreram nas cultivares MSOY 8008 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR, as quais foram afetadas pelas quatro modalidades de aplicação de glyphosate em intensidades semelhantes em relação às suas respectivas testemunhas sem aplicação. E nas cultivares CD 213 RR e AL 83 TROPICAL RR que apresentaram redução nas modalidades de aplicação SI, SII e DUII para a primeira cultivar e SI e DUII, para a segunda cultivar, respectivamente. Comparações entre as cultivares não apresentaram diferença significativa para nenhuma das modalidades de aplicação. King et al. (2001) testaram o efeito do glyphosate sobre plantas totalmente dependentes da nodulação para obtenção de nitrogênio e plantas supridas com nitrogênio mineral. Observou-se decréscimo na biomassa da parte aérea das plantas supridas ou não com nitrogênio. Esse fato sugere possível efeito direto negativo do glyphosate sobre a produção de matéria seca da parte aérea sem que a redução na nodulação seja a principal responsável por este decréscimo. Isto demonstra que os resultados obtidos no presente trabalho, apesar de terem sido observados em apenas seis das 20 cultivares testadas, já foram constatados por outros autores. Reddy et al. (2000) também encontraram diminuição da matéria seca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular de plantas de soja RR tratadas com glyphosate em comparação com a testemunha

Tabela 8 – Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca da Parte Aérea (%) ^{1/}																				
VARIEDADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	89,4aA	87,7aA	81,1bA	92,0aA	89,9aA	80,6aA	84,5aA	82,9bA	100,0aA	94,4aA	77,7aA	79,0bA	78,9bA	88,6aA	88,1bA	83,5aA	83,2bA	84,5aA	88,6aA	89,8aA
DUI ^{6/}	88,1aA	87,9aA	99,3aA	94,0aA	85,7aA	91,0aA	83,4aA	79,8bA	94,7aA	96,7aA	89,5aA	88,8bA	85,1bA	90,2aA	97,8aA	90,5aA	78,8bA	87,3aA	93,5aA	95,0aA
SII ^{7/}	85,9aA	88,1aA	95,1aA	87,2aA	93,5aA	90,8aA	82,4aA	84,5bA	89,0aA	90,9aA	90,8aA	85,5bA	80,6bA	87,6aA	84,9bA	84,9aA	81,2bA	85,7aA	91,5aA	89,2aA
DUII ^{8/}	85,4aA	89,1aA	85,0bA	88,1aA	94,3aA	86,1aA	86,0aA	74,5bA	93,1aA	92,4aA	84,9aA	79,7bA	87,4bA	86,2aA	79,9bA	90,3aA	87,2bA	81,9aA	91,0aA	84,6aA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

sem herbicida, no entanto, esses resultados só foram possíveis com o dobro da dose máxima utilizada no presente trabalho, mostrando assim a existência de um potencial de injúria que o glyphosate pode ter sobre plantas de soja RR tratadas com doses maiores. Uma hipótese para as reduções ocorridas no acúmulo de MSPA e MSSR é processo de degradação do glyphosate dentro da planta, que resulta na formação de um determinado subproduto, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004).

CD 219 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR e VALIOSA RR apresentaram redução de três das quatro variáveis avaliadas em pelo uma das quatro modalidades de aplicação de glyphosate, quando comparadas à testemunha. No entanto, não foi encontrado, entre as cultivares um padrão de redução em relação às modalidades de aplicação, já que a cultivar ANTA RR teve a MSSR afetada apenas pelas aplicações em dose única (DUI e DUII). Por outro lado, MSOY 8100 teve redução da mesma variável apenas na modalidade de aplicação SII, demonstrando que cada cultivar responde de forma diferente às aplicações de glyphosate. Em MSOY 6001 RR, as quatro modalidades de aplicação causaram redução em relação à testemunha nas três variáveis citadas (MSNT, MSSR e NN), apresentando desta forma mais um padrão de resposta em relação aos tratamentos.

Segundo os resultados obtidos, podemos agrupar as cultivares em três grupos segundo a tolerância às aplicações de glyphosate. As cultivares BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e CD 214 RR apresentaram redução de nenhuma ou de apenas uma das variáveis comparadas com suas respectivas testemunhas, sugerindo ser um grupo de maior tolerância às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação testadas neste experimento. As cultivares ANTA RR, CRISTALINA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, CD 213 RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR foram as mais afetadas pelas aplicações de glyphosate, sendo que pelo menos três das quatro variáveis analisadas (MSNT, MSSR, MSPA, NN) foram reduzidas por pelo menos uma das modalidades de aplicação, indicando se tratar de um grupo menos tolerante às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação

testadas nesse experimento. O grupo de tolerância intermediária conta com apenas quatro cultivares: AL 83 TROPICAL, CD 219 RR, MSOY 8000 RR e NI.

Os testes com contrastes permitiram classificar os efeitos das modalidades de aplicação e das cultivares sobre as variáveis-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN) estudadas (Tabela 9).

Tabela 9 – Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Contrastes		MSSR		MSPA		MSNT		NN	
Coeficientes Θ	Coeficientes Θ	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f
Cultivares BRS	vs Cultivares Monsoy	-0,24	0,87	+2,43	0,08	+5,05	0,01	+8,80	<0,01
Cultivares BRS	vs Cultivares CD	+0,16	0,93	+1,30	0,44	+7,70	<0,01	+11,85	<0,01
Cultivares Monsoy	vs Cultivares CD	+0,40	0,83	+1,13	0,50	-2,65	0,29	-3,04	0,22
Cultivares precoces	vs Cultivares não-precoces	+0,99	0,46	+3,45	<0,01	+1,15	0,51	+4,49	0,01
SI	vs SII	+1,86	0,33	-1,25	0,45	+2,11	0,40	+1,03	0,67
DUI	vs DUII	+3,04	0,11	+3,39	0,04	+3,56	0,15	+4,16	0,09
Seqüenciais	vs Doses Únicas	-3,13*	0,02	-1,20	0,31	+0,25	0,88	-0,16	0,92
Doses I	vs Doses II	+2,45	0,07	+1,07	0,37	+2,83	0,11	+2,59	0,13
Testemunha	vs Seqüenciais	+18,40	<0,01	+13,16	<0,01	+24,12	<0,01	+29,30	<0,01
Testemunha	vs Doses Únicas	+15,26	<0,01	+11,95	<0,01	+24,38	<0,01	+29,13	<0,01

* As estimativas apresentadas em negrito são significativas pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os contrastes feitos entre modalidades de aplicação seqüenciais *versus* testemunha e doses únicas *versus* testemunha foram os únicos significativos para todas as variáveis-resposta analisadas. Em ambos os casos, houve superioridade das médias da testemunha em relação às modalidades de aplicação para as quatro variáveis estudadas (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Isto

sugere efeito de redução das variáveis-resposta quando submetidas às modalidades de aplicação analisadas por este experimento em relação à testemunha sem aplicação.

As comparações feitas entre os contrastes estabelecidos demonstraram diferença significativa para a MSSR apenas no contraste feito entre as aplicações seqüenciais e aplicações com dose única e os contrastes entre testemunha e modalidades de aplicação. Isto demonstra resposta melhor desta variável para as aplicações em dose única. Desta forma, essa variável-resposta depende mais da modalidade de aplicação do que das doses de glyphosate testadas, material genético ou grupo de maturação. Isto possivelmente se deve ao fato da maior capacidade de metabolização do glyphosate e seus subprodutos em aplicação em dose única. Segundo Monquero (2003), diversos trabalhos demonstram as vantagens de aplicação seqüencial de glyphosate em relação a uma única aplicação sobre o controle de plantas daninhas de difícil controle, cujo fato sugere que o grau de injúria nas plantas é maior nas aplicações seqüenciais em relação à aplicação única, o que pode ser aplicado também aos resultados obtidos para soja RR, nesse trabalho, em relação à MSSR.

Para MSPA, os contrastes que apresentaram significância foram grupos de maturação e comparação entre doses únicas, além dos citados anteriormente, sugerindo que a MSPA é dependente do grupo de maturação das cultivares de soja, e se tratadas com aplicações em doses únicas respondem melhor às doses menores. Uma possível explicação para este fato poderia ser a grande dependência da soja em relação ao ambiente em que está inserida, uma vez que a planta depende de fatores como temperatura e fotoperíodo para que seu desenvolvimento e floração sejam satisfatórios (EMBRAPA, 2006).

A variável MSNT demonstrou uma forte dependência do material genético da cultivar em questão, já que nenhum outro grupo testado pelos contrastes, além dos contrastes entre testemunhas e modalidades de aplicação, apresentou diferença significativa, demonstrando superioridade de acúmulo de MSNT nas cultivares BRS testadas em relação às cultivares MONSOY e CD. A importância do genótipo da soja para o bom desempenho do processo da fixação biológica do N₂ já havia sido ressaltada desde os

primeiros ensaios conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; ARRUDA, 1967). Segundo Bohrer e Hungria (1998), na ausência de uma avaliação contínua das características relacionadas à fixação do N₂, nos programas de melhoramento, pode ocorrer perdas genéticas em relação à capacidade simbiótica.

O número de nódulos (NN) foi afetado por dois dos fatores testados, além das modalidades de aplicação em relação à testemunha. Um dos fatores foi o mesmo que influencia a MSNT, ou seja, o material genético das cultivares em questão. O segundo fator (grupo de maturação) apresentou as cultivares precoces como mais favoráveis ao acúmulo de NN. Uma possível hipótese para esta superioridade do grupo precoce em relação ao não-precoce pode estar relacionada ao período de início de formação dos nódulos. Nas precoces, esse período, possivelmente, é menor que nas não-precoces, e, portanto, influenciado pelas aplicações mais tardias (2^{as} aplicações seqüenciais e as duas aplicações em dose única).

Tais informações são de grande importância, pois associam cada parte do desenvolvimento da planta (variáveis-resposta) a uma determinada fonte de variação. Desta forma, é possível inferir qual fonte de variação (material genético, grupo de maturação ou modalidades de aplicação) interfere numa determinada variável-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Tal análise permite inferências que podem contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

De modo geral, MSSR é independente do grupo de cultivar, variando segundo a modalidade de aplicação de glyphosate. MSPA apresenta uma tendência de melhor desempenho para as cultivares precoces em relação às cultivares não-precoces. E em caso de uso de aplicação em dose única, as doses menores causaram menores reduções nessa variável. Em MSNT e NN, observa-se um efeito evidente do material genético em questão, e o grupo de cultivares BRS apresentou melhor desempenho de nodulação em relação aos demais grupos, após aplicações de glyphosate. Além disso, as cultivares mais precoces tendem a nodular em maior número quando expostas às situações ora apresentadas.

Todas as doses e modalidades de aplicação de glyphosate causaram redução em todas as variáveis avaliadas. Os efeitos do glyphosate sobre a soja RR são dependentes de fatores como: variedade, grupo de maturação, época de aplicação e dose.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, 20(6):27-30, 1986.

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS,C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, 35:1461-1467, 1995.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:475-487, 1967.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, 119:15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, 93:408-412, 2001.

EMBRAPA. Exigências Climáticas. In: EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2007**. Londrina: Embrapa, 2006. 217 p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FISHER, R.S.; BERRY, A.; GAINES, C.G.; JENSEN, R.A. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in Eubacteria. **Journal of Bacteriology**, 168:1147–1154, 1986.

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

GONZINI, L.C.; HART, S.E.; WAX, L.M. Herbicide combinations for weed management in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, 13:354–360, 1999.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 47:2920-2925, 1999.

JAWORSKI, E.G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: Inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 20:1195-1198, 1972.

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, 65:112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, 28:291-296, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to trimethylsulfonium and isopropylamine salts of glyphosate. **Weed Technology**, 15:745–749, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, 57:1799-1804, 1991.

MARTENSSON, A.M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biology Biochemistry**, 24:435-445, 1992.

MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 99 p. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia).

MOORMAN, T.B.; BECERRIL, J.M.; LYDON, J.; DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 40:289-293, 1992.

NELSON, K.A.; RENNER, K.A. Weed management in wide- and narrow-row glyphosate resistant soybean. **Journal of Production Agriculture**, 12:460–465, 1999.

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

REDDY, K.N. Weed management in transgenic soybean resistant to glyphosate under conventional tillage and no-tillage systems. **Journal of New Seeds**, 3:27–40, 2001.

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

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

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, 14:204–211, 2000.

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

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

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, 33:825-831, 2004.

CAPÍTULO II

EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR

RESUMO. A principal fonte de nitrogênio para nutrição da planta é proveniente da fixação biológica do nitrogênio promovida pelas bactérias simbiotes *Bradyrhizobium spp.* presentes nas raízes da cultura, constituindo desta forma importantes instrumentos no desenvolvimento e produtividade de soja. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de herbicidas sobre duas cultivares de soja RR, BRS 245 RR e BRS 247 RR, organizados num arranjo fatorial 6 x 2 com sete repetições. Os seis níveis de aplicação de herbicida foram: testemunha sem herbicida, fomesafen em aplicação seqüencial de 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE), fomesafen/[fomesafen+fluazifop] em aplicação seqüencial de 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 DAE, fluazifop em aplicação única de 0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,540/0,360 kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹ e glyphosate em aplicação única de 0,720 kg EA ha⁻¹ aos 12/24 DAE e 20 DAE, respectivamente. Foram avaliadas as variáveis matéria seca do sistema radicular, matéria seca da parte aérea, matéria seca dos nódulos acumulados e número de nódulos acumulados. A cultivar BRS 247 RR foi afetada negativamente pelos tratamentos com glyphosate em aplicação única, e pelos tratamentos com fluazifop. A cultivar BRS 245 RR mostrou-se mais tolerante às aplicações dos herbicidas não apresentando redução em nenhuma das variáveis analisadas.

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada pela simbiose com bactérias da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* ou ambas (HUNGRIA et al., 1999), em soja. Os nódulos radiculares, centros de fixação, assimilação e exportação do nitrogênio fixado são formados após as bactérias entrarem em contato e penetrarem nas raízes da planta hospedeira, via células radiculares pilosas ou outras células epidérmicas. Após a penetração, formam-se os fios ou cordões de infecção que atingem o córtex da raiz, subdividem-se e se associam a pequenos grupos de células que darão origem aos nódulos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Quanto ao desenvolvimento da nodulação em campo, estudos indicam o aparecimento, na primeira semana após a emergência, de quatro a oito primeiros nódulos na coroa da raiz. Na segunda semana, a fixação biológica do nitrogênio já está ocorrendo (HUNGRIA et al., 1999) e continuará durante todo o ciclo da planta, atingindo seu ponto máximo no estágio de floração plena e declinando, a partir do enchimento das sementes.

Avanços na biotecnologia resultaram na criação de cultivares de soja resistentes ao glyphosate (RR), proporcionando uma opção eficaz de amplo espectro de controle pós-emergente de plantas daninhas. Glyphosate inibe a 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), uma enzima da rota do chiquimato que leva à síntese dos aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano (DUKE, 1988). As cultivares de soja RR contêm a enzima EPSPS proveniente de *Agrobacterium* sp. (PADGETTE et al., 1995) que são resistentes ao glyphosate. Apesar disso, os simbiossiontes fixadores de N₂ presentes nas raízes da soja, *Bradyrhizobium* spp., contêm a forma sensível desta enzima (JAWORSKI, 1972; MOORMAN et al., 1992).

Segundo Marenco et al. (1993) e Santos et al. (2004), a aplicação de herbicidas sobre culturas que realizam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico pode prejudicar a eficiência na assimilação desse nutriente. Tais prejuízos devem-se à interferência do herbicida no metabolismo do microsimbionte, na planta hospedeira ou em ambos, quando em

associação (ARRUDA et al., 2001). Aplicações de herbicidas, dependendo da dose, mecanismo de ação, presença de microrganismos e sua sensibilidade destes aos princípios ativos, podem trazer conseqüências indesejáveis para a microbiota (ROYUELA et al., 1998). Segundo Santos et al. (2006), acredita-se que a maior interferência desses compostos ocorre quando eles agem sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns entre microrganismos e plantas.

A sensibilidade do *Bradyrhizobium spp.* ao glyphosate é influenciada pela concentração do herbicida e pela estirpe da bactéria (KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004). Em alguns países, constatou-se que o glyphosate provocou intoxicação em estirpes de rizóbios ou prejudicou a nodulação de soja (MALLIK; TESFAI, 1985; MOORMAN et al., 1992; HERNANDEZ et al., 1999; KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004; MALTY et al., 2006). Moorman et al. (1992) aplicaram doses de 0,5 mM de glyphosate em *B. japonicum* e encontraram inibição diferencial de crescimento entre as estirpes testadas e completa inibição de todas elas quando expostas à dose de 5 mM. Santos et al. (2004) testaram as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,26 mM do equivalente ácido de glyphosate, e constataram diferenças de crescimento entre as estirpes de rizóbios e formulações utilizadas no experimento. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Malty et al. (2006) também demonstraram efeito inibitório do glyphosate ao crescimento de *Bradyrhizobium spp.* em meio de cultura, e esse efeito foi crescente com o aumento das concentrações aplicadas, tendo também variado em razão das estirpes avaliadas. Foi constatado que concentrações iguais a 0,21 mM de glyphosate inibem 50% do crescimento (DI_{50}) da estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* BR 86 e concentrações iguais a 0,45 mM inibem 100% do crescimento de todas as estirpes de rizóbios testadas.

King et al. (2001) encontraram diferença de resultados entre as cultivares RR tratadas com glyphosate, e o efeito inibitório da nodulação variou em razão das cultivares testadas, o que sugere que há variabilidade na sensibilidade em função do material genético avaliado.

Trabalhos anteriores demonstram que em concentrações extremamente baixas (menores que 0,1 mM), o glyphosate pode ser benéfico ao desenvolvimento de certas estirpes de rizóbios, demonstrando resposta quadrática negativa na análise de regressão em relação à dose aplicada (EBERBACH; DOUGLAS, 1989). Maly et al. (2006) demonstraram que doses da ordem de 0,089 mM de Roundup (360 g L⁻¹, do equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate) proporcionaram maior desenvolvimento dos rizóbios da estirpe BR 86 em relação à testemunha sem herbicida, porém estas concentrações são menores do que as encontradas nas raízes e nódulos de plantas tratadas com doses comerciais de glyphosate, criando portanto, falsa idéia de que o glyphosate possa estimular a nodulação na planta em condições normais de cultivo. Em trabalho desenvolvido por Honegger et al. (1986), observou-se que com aplicações de glyphosate de apenas 0,5 kg EA ha⁻¹ foram encontradas concentrações acima de 0,3 mM em tecidos do sistema radicular de plantas suscetíveis. Doses maiores ou aplicações repetidas podem resultar em concentrações mais elevadas, especialmente em fortes drenos de metabólitos como é o caso dos nódulos das raízes de soja quando comparados com o sistema radicular das mesmas (MCWHORTER et al., 1980). Isto sugere a possibilidade de serem encontradas condições de grande potencial inibitório do sistema radicular e principalmente dos nódulos radiculares das plantas de soja tratadas com glyphosate por ocasião do manejo de plantas daninhas presentes na cultura.

Liu et al. (1991) também observaram efeito inibitório do glyphosate em meio de cultura, para a estirpe RM1021 de *Rhizobium meliloti*, em concentrações maiores que 1 mM. Hernandez et al. (1999) observaram inibição de crescimento que variou de 17 a 53% entre as três estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* testadas sob a concentração de 0,03 mM de glyphosate, cuja concentração é muito inferior às encontradas em raízes, nódulos e outros drenos (HONEGGER et al., 1986).

Algumas hipóteses que podem explicar o efeito supressivo sobre a produtividade de grãos em cultivares com genes inseridos provenientes de outro organismo são enumeradas por Elmore et al. (2001a): (1) processo de inserção do gene que confere a resistência ao glyphosate, (2) diferenciais genéticos entre cultivares, (3) glyphosate (efeito do herbicida) e (4) efeitos

relacionados ao seu metabolismo na planta, acarretando sub-mecanismos de ação causados por subprodutos, como o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004). Esses fatores podem causar efeito direto do glyphosate sobre as bactérias simbiotes, tais como: inibição de crescimento e redução da biomassa dos nódulos e diminuição do conteúdo de clorofila e leghemoglobina na planta (REDDY et al., 2000). Redução de produtividade de grãos da ordem de 5% em cultivares RR foi constatada em trabalho desenvolvido por Elmore et al. (2001b), quando compararam linhagens irmãs com e sem inserção do gene RR. Também têm sido observados efeitos secundários, como redução do conteúdo de clorofila e crescimento da planta (KRAUSZ; YOUNG, 2001; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004), provavelmente em virtude do efeito tóxico do metabólito AMPA proveniente da degradação do herbicida.

Em trabalho desenvolvido por Reddy et al. (2004), constatou-se que o AMPA não afeta os níveis de chiquimato, tanto em soja RR quanto em soja convencional, mostrando que seu mecanismo de ação difere do glyphosate. A fitotoxicidade do AMPA para a soja fica evidente em virtude do efeito de redução do conteúdo de clorofila e da matéria seca da parte aérea, constatados por meio de aplicações desta fitotoxina em soja RR em doses que variam de 0 a 8 kg i.a. ha⁻¹. Tais aplicações resultaram na redução do conteúdo de clorofila em até 66% e de matéria seca da parte aérea em até 39%.

Assim como o glyphosate, outros herbicidas pré e pós-emergentes podem afetar a nodulação de leguminosas. Wichert e Talbert (1993) observaram que o fluazifop-p-butil, dois dias após a sua aplicação, já estava presente nas raízes tanto na forma ativa quanto metabolizado. Santos et al. (2006) estudaram os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e a mistura deles sobre duas estirpes de *Rhizobium tropici* e constataram que a mistura comercial entre os dois herbicidas causou maior inibição de crescimento das colônias de bactérias de uma das duas estirpes testadas. Quando o fluazifop-p-butil foi adicionado em diferentes concentrações ao meio de cultura, as estirpes avaliadas não apresentaram sensibilidade diferencial em relação ao crescimento. Mesmo na maior concentração testada (0,29 mM), o número de colônias formadas foi semelhante ao observado na testemunha. Entretanto, com o aumento da concentração do fomesafen, isolado ou em mistura com

fluazifop-p-butil, observou-se inibição do crescimento das colônias de bactérias ao longo do período de avaliação. Para o fomesafen isolado, as reduções foram menores, porém mais expressivas para uma das estirpes em relação à outra. Procópio et al. (2004) observaram que os herbicidas imazethapyr e fomesafen, aplicados em meio YM para o crescimento de *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019), reduziram em mais de 40% o crescimento dessa estirpe.

Apesar dos efeitos nocivos do fomesafen às bactérias quando em contato direto, esse herbicida tem pouca ou nenhuma translocação na planta (OLIVEIRA JR., 2001), uma vez que não se move pelo floema (VIDAL, 2002). Desta forma, espera-se que não deve atingir os nódulos na forma ativa. Porém, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conta disso, entrar em contato com o sistema radicular e conseqüentemente com os nódulos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate sobre a nodulação e acúmulo de biomassa em duas cultivares de soja RR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542m de altitude, segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 10 de dezembro de 2005 a 08 de março de 2006. Foram utilizadas duas variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes da Embrapa Soja em Londrina: BRS 245 RR e BRS 247 RR.

A cultivar BRS 245 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação semi-precoce, com ciclo total de 123 a 143 dias e é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É originada do cruzamento das linhagens BRS 133 e E96-246. A cultivar BRS 247 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação médio, com ciclo total de 124 a 145 dias, é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É proveniente do cruzamento das linhagens BRS 134, Embrapa 59 e E96-246.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 1. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3×10^9 rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as

plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 1 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

pH		Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C
CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³			g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte			Argila		
g kg ⁻¹										
370		320			80			230		

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá - PR.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as duas variedades de soja RR e seis modalidades de aplicação (MA) de herbicidas. Os níveis das MA com herbicida foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de fomesafen: 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen + fluazifop-p-butil]: 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação única de fluazifop-p-butil: 0,125 kg i.a. ha⁻¹ (20 DAE); aplicação única de glyphosate: 0,720 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) e aplicação seqüencial de glyphosate: 0,540/0,360 kg EA ha⁻¹ (12/24 DAE).

As doses dos herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butil estão em kg de ingrediente ativo por hectare e as doses de glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfonometil) glicina – glyphosate por hectare. Foi adicionado Energic à calda de pulverização na concentração de 0,2% (v/v) nas aplicações com os herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butil, de acordo com a recomendação do fabricante. Os dados referentes aos herbicidas, doses, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja (FEHR; CAVINESS, 1971) são mostradas na Tabela 2.

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçadas a 50 cm entre si, posicionada na

altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião da aplicação de 12 DAE, a temperatura estava a 25°C, umidade relativa do ar (U.R.%) em 72%, solo úmido, velocidade do vento de 5 km⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade, para aplicação de 20 DAE a temperatura era de 21°C, U.R.% = 81%, solo úmido, velocidade do vento de 1 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas; para aplicação de 24 DAE a temperatura era de 28°C, U.R.% = 70%, solo úmido, velocidade do vento de 8 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Tabela 2 – Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja.

MA ^{1/} /Herbicida	Dose ^{2/}	Época de aplicação	Estádio da Soja
Testemunha	-	-	-
Seqüencial de Fomesafen ^{3/}	0,125/0,125	12/24 DAE	V3/V5
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil] ^{4/}	0,125/[0,125+0,125]	12/24 DAE	V3/V5
Dose Única de Fluazifop-p-butil ^{5/}	0,125	20 DAE	V4
Dose Única de Glyphosate ^{6/}	0,720	20 DAE	V4
Seqüencial de Glyphosate ^{6/}	0,540/0,360	12/24 DAE	V3/V5

^{1/} MA: Modalidade de aplicação

^{2/} Doses de Fomesafen e Fluazifop-p-butil em kg i.a. ha⁻¹/Doses de Glyphosate em kg EA ha⁻¹

^{3/} Produto comercial Flex

^{4/} Produto comercial Fusiflex

^{5/} Produto comercial Fusilade

^{6/} Produto comercial Roundup Transorb

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estágio R3, as plantas de soja foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foi avaliada matéria seca de parte aérea, do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do arranjo fatorial, foram analisados os efeitos isolados de modalidades de aplicação dos herbicidas e os desdobramentos da interação entre as modalidades de aplicação e as cultivares.

Os resultados do efeito isolado das modalidades de aplicação dos herbicidas mostraram influência sobre as variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN), os quais são mostrados na Tabela 3. A variável MSSR foi afetada negativamente pelos tratamentos com dose única de fluazifop e glyphosate apresentando reduções de 14,55 e 9,94%, respectivamente, para esses tratamentos.

Tabela 3 – Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Modalidade de Aplicação/Herbicida	MSSR	MSPA	MSNT	NN
Testemunha	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
Seqüencial de Fomesafen	95,37 a	95,84 a	90,21 a	87,09 b
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,48 a	94,99 a	88,92 a	82,54 b
Dose Única de Fluazifop-p-butil	85,45 b	93,63 a	72,11 b	71,78 b
Dose Única de Glyphosate	90,06 b	89,66 a	76,15 b	72,88 b
Seqüencial de Glyphosate	93,94 a	95,86 a	87,77 a	83,92 b

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

A aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop] não reduziu significativamente a MSSR, ao passo que a dose única de fluazifop reduziu esta variável. Esperava-se que o efeito de redução causado pelo fluazifop no tratamento com aplicação única se repetisse no tratamento com aplicação

seqüencial junto com fomesafen, o que não aconteceu. Uma possibilidade para isso é que as formulações dos herbicidas podem influenciar nos efeitos causados pelos mesmos. Malkones (2000) inferiu que os aditivos presentes na formulação dos agroquímicos podem afetar os microrganismos e, em certos casos, até modificar o efeito dos agroquímicos. Segundo Kishinevsky et al. (1988), é possível que solventes, surfatantes e agentes molhantes presentes nas formulações comerciais de herbicidas contribuam para os efeitos inibitórios desses produtos no crescimento de estirpes de rizóbios. Além disso, a última aplicação seqüencial de [fomesafen+ fluazifop] foi realizada quatro dias mais tarde do que a aplicação de fluazifop em dose única, o que pode ter levado ao incremento na tolerância ou na capacidade de metabolização das plantas.

Já, o fato da aplicação seqüencial de glyphosate não ter causado redução significativa na MSSR pode estar associado tanto às épocas de aplicação quanto às doses de glyphosate, como encontrado por Reddy e Zablutowicz (2003) em trabalho realizado com glyphosate, onde as épocas de aplicação influenciaram nas variáveis estudadas. A variável matéria seca da parte aérea (MSPA) não foi influenciada significativamente por nenhuma das modalidades de aplicação com herbicidas. Este fato demonstra a esperada seletividade dos herbicidas em relação à planta, porém isto não os isenta dos efeitos causados nas outras variáveis.

Os mesmos dois tratamentos que causaram redução na MSSR também diminuíram a MSNT. Essa redução foi de 27,89 e 23,85% para fluazifop e glyphosate, respectivamente. Da mesma forma, as aplicações seqüenciais que contêm esses dois ingredientes ativos não causaram redução nessa variável. A hipótese levantada para a MSSR é igualmente aplicável para explicar os resultados encontrados para esta MSNT.

O número de nódulos acumulados (NN) foi reduzido em todos os tratamentos com herbicidas em relação à testemunha sem aplicação. As reduções variaram entre 12,81 e 28,22% para fomesafen em dose única e fluazifop em dose única, respectivamente. A resposta desta variável aos tratamentos diferiu das respostas encontradas para as outras duas variáveis afetadas significativamente.

Herbicidas como o fluazifop e o glyphosate possuem ação sistêmica nas plantas, isto é, quando aplicados à parte aérea das mesmas podem se

translocar até as raízes. Tais herbicidas e seus metabólitos podem, portanto, entrar em contato direto com os simbiontes da raiz. Embora não haja relatos sobre a toxicidade de fluazifop em relação a esses organismos, inúmeros autores (KAPUSTA; ROUWENHORST, 1973; ALAGAVADI; REDDY, 1986; KISHINEVSKY et al., 1988; DELANNAY et al., 1995; REDDY et al., 2004) descreveram o efeito tóxico sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio, o que pode ter sido a causa da redução do número de nódulos nos tratamentos que continham esses herbicidas. O fomesafen é considerado um herbicida de contato (OLIVEIRA JR., 2001; VIDAL, 2002), sendo de pouca ou nenhuma mobilidade. No entanto, mesmo não havendo translocação significativa deste herbicida para o sistema radicular, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conseqüência, entrar em contato com o sistema radicular ou diretamente com os nódulos. Esta possibilidade é reforçada pelo fato de que a toxicidade do fomesafen para espécies de rizóbios já foi demonstrada por testes *in vitro* (SANTOS et al., 2006).

O fato de ter havido redução no número de nódulos e não ter ocorrido o mesmo para MSNT no tratamento com glyphosate em aplicação seqüencial explica-se pela época de aplicação do produto. De forma que a aplicação de 0,54 kg EA ha⁻¹ de glyphosate aos 12 DAE reduziu a quantidade de nódulos formados nesta primeira etapa da nodulação, ao passo que a segunda aplicação de glyphosate foi menos nociva à nodulação, já que a dose foi menor (0,36 kg EA ha⁻¹), permitindo desta forma que a planta compensasse a quantidade de nódulos não-formados na primeira etapa com nódulos de maior massa individual nessa segunda etapa de formação.

Ao analisar o desdobramento da interação entre as cultivares e modalidades de aplicação de herbicidas (Tabela 4), pode-se observar fatos específicos de relevância.

A única diferença significativa entre as cultivares foi encontrada para matéria seca do sistema radicular na aplicação de dose única de fluazifop, para a qual a cultivar BRS 245 RR demonstrou maior tolerância em relação à cultivar BRS 247 RR.

A cultivar BRS 247 RR teve a matéria seca do sistema radicular reduzida apenas pela aplicação em dose única de fluazifop. A matéria seca dos nódulos acumulados foi reduzida pelas duas aplicações em dose única, tanto

de fluazifop, quanto de glyphosate. O número de nódulos foi reduzido pelas duas aplicações que continham fluazifop, além da aplicação em dose única de glyphosate. A cultivar BRS 245 RR não teve redução em nenhuma das variáveis analisadas por nenhuma das modalidades de aplicação.

Tabela 4 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas.

Modalidade de aplicação/ Herbicida	MSSR		MSPA		MSNT		NN	
	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR
	%							
Testemunha	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA
Seqüencial de Fomesafen	91,29aA	99,44aA	98,27aA	93,41aA	86,88aA	93,55aA	86,49aA	87,69aA
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,94aA	92,01aA	95,15aA	94,83aA	88,44aA	89,40aA	80,55bA	84,53aA
Dose Única de Fluazifop-p-butil	80,44bB	90,46aA	93,10aA	94,17aA	73,71bA	70,51aA	75,28bA	68,27aA
Dose Única de Glyphosate	89,57aA	90,55aA	88,15aA	91,16aA	70,96bA	81,34aA	65,04bA	80,72aA
Seqüencial de Glyphosate	91,62aA	96,25aA	96,19aA	95,52aA	88,32aA	87,21aA	87,53aA	80,30aA

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas linhas (para uma mesma variável-resposta) não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de significância

Os resultados demonstram que existe diferença entre as cultivares em relação às aplicações. A cultivar BRS 247 RR é menos tolerante aos tratamentos aqui apresentados do que a cultivar BRS 245 RR. A modalidade de aplicação e a dose de ingrediente ativo são importantes fatores no efeito causado pelos herbicidas sobre a nodulação e desenvolvimento da planta. A variável número de nódulos foi a mais afetada pelos tratamentos. A variável matéria seca da parte aérea não foi reduzida por nenhum dos tratamentos em nenhuma das cultivares.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, v. 20, p. 27-30, 1986.

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

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS, C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, v. 35, p. 1461-1467, 1995.

DUKE, S.O. Glyphosate. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1988. p.1-70.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, v. 119, p. 15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 404-407, 2001a.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 408-412, 2001b.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

HONEGGER, J.L.; BROOKS, J.M.; ANDERSON, E.J.; PORTER, C.A.. Glyphosate transport in plants. In: CRONSHAW, J. (Ed.) **Phloem transport**. New York: Liss, 1986. p.609-618.

HUNGRIA, M; CAMPOS, R.J.; VARGAS, M.A.T.; CATTELAN, A.J.; MENDES, I.C. Microbiologia do solo e produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa, 1999. p.126-137.

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

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, v. 65, p. 112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, v. 28, p. 291-196, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of double-crop glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to broadleaf herbicides. **Weed Technology**, v. 15, p. 300-305, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect of soybean-rhizobia symbiosis. **Plant Soil**, v. 85, p. 33-41, 1985.

MALKONES, H.P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities - a review. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 8, n. 5, p. 781-789, 2000.

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

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

McWHORTER, C.G.; JORDAN, T.N.; WILLS, G.D. Translocation of 14C-glyphosate in soybean (*Glycine max*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, v. 28, p. 113-118, 1980.

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

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

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

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS J.B.; JACQUES, R.J.S.; KASUYA, M.C.M.; SILVA, A.A.; WERLANG, R.C. Crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium* sob influência dos herbicidas glyphosate potássico, fomesafen, imazethapyr e carfentrazone-ethyl. **Revista Ceres**, v. 51, n. 294, p. 179-188, 2004.

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**, v. 2, p. 37-52, 2000.

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

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

ROYUELA, M.; GONZALEZ, A.; ARRESE-IGOR, C.; APARICIO-TEJO, P.M.; GONZALEZ-MURUA, C. Imazethapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with pea. **Pesticide Science**, v. 52, p. 372-380, 1998.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VIDAL, R.A. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: **Ação dos herbicidas: absorção, translocação, e metabolização**. Porto Alegre: Evangraf, 2002. p.60-70.

WICHERT, R.A.; TALBERT, R.E. Soybean [*Glycine max* (L.)] response to lactofen. **Weed Science**, v. 41, p. 23-27, 1993.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

CONCLUSÕES

- O herbicida glyphosate causou reduções de matéria seca da parte aérea, matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- O herbicida fluazifop e a mistura [fluazifop+fomesafen] causaram redução de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- As variáveis-resposta analisadas são dependentes de diferentes fatores presentes neste trabalho.
- As cultivares têm reações diferenciadas entre si para as diferentes modalidades de aplicação utilizadas neste trabalho.
- As modalidades de aplicação causam diferentes efeitos dentro de uma mesma cultivar de soja.
- Mesmo que não haja danos visuais na parte aérea das plantas pode ocorrer perda de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e redução no número de nódulos.
- Cultivares de ciclo precoce apresentaram maior número de nódulos.
- Cultivares BRS apresentaram melhores resultados de nodulação.

APÊNDICE

Tabela 1A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	19	1000,09**	307,96 ^{ns}	1315,60**	1832,28**
Modalidade de Aplicação (MA)	4	8502,58**	4696,36**	16773,11**	24227,46**
Cv x MA	76	214,33 ^{ns}	100,62 ^{ns}	293,45 ^{ns}	391,66 ^{ns}
Cv/Test	19	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/SI	19	386,11 ^{ns}	226,46 ^{ns}	271,66 ^{ns}	338,51 ^{ns}
Cv/DUI	19	326,30 ^{ns}	210,12 ^{ns}	588,82 ^{ns}	646,38**
Cv/SII	19	620,91**	108,64 ^{ns}	657,34 ^{ns}	941,60**
Cv/DUII	19	524,09**	165,20 ^{ns}	971,58**	1472,43**
MA/BRS245 RR	4	997,46**	247,44 ^{ns}	634,42 ^{ns}	538,28 ^{ns}
MA/MSOY8151 RR	4	326,09 ^{ns}	197,16 ^{ns}	405,72 ^{ns}	544,22 ^{ns}
MA/AL83TROPICAL RR	4	406,97 ^{ns}	515,72**	903,62 ^{ns}	1524,08**
MA/CD214 RR	4	141,65 ^{ns}	186,27 ^{ns}	554,78 ^{ns}	1077,35**
MA/BRS242 RR	4	502,02 ^{ns}	197,40 ^{ns}	1000,76 ^{ns}	1082,09**
MA/BRS244 RR	4	483,78 ^{ns}	358,82 ^{ns}	697,89 ^{ns}	905,25**
MA/CD219 RR	4	499,26 ^{ns}	367,14 ^{ns}	1158,01**	1631,73**
MA/MSOY8008 RR	4	659,32**	639,89**	1450,88**	2191,80**
MA/ANTA RR	4	926,53**	155,04 ^{ns}	1550,50**	1851,00**
MA/BRS243 RR	4	143,38 ^{ns}	90,17 ^{ns}	344,01 ^{ns}	638,03 ^{ns}
MA/MSOY6001 RR	4	1128,68**	471,49 ^{ns}	1778,37**	1854,63**
MA/CRISTALINA RR	4	650,96**	510,74**	1154,12**	1154,51**
MA/BRS247 RR	4	1703,50**	485,87**	737,11 ^{ns}	1210,00**
MA/MSOY9000 RR	4	148,17 ^{ns}	211,22 ^{ns}	438,05 ^{ns}	934,10 ^{ns}
MA/CD213 RR	4	1352,89**	461,10**	3897,22**	4964,87**
MA/MSOY8100 RR	4	966,61**	296,45 ^{ns}	1411,96**	2288,76**
MA/VALIOSA RR	4	532,58 ^{ns}	489,76**	1221,49**	1599,76**
MA/MSOY8000 RR	4	460,80 ^{ns}	348,46 ^{ns}	1276,54**	2114,36**
MA/BRS246 RR	4	150,35 ^{ns}	131,16 ^{ns}	588,90 ^{ns}	944,08 ^{ns}
MA/NI	4	393,90 ^{ns}	246,74 ^{ns}	1144,26**	2620,12**
Blocos	6	1535,81	2681,93	11535,51	37445,05
Resíduo	594	257,95	200,86	445,61	431,95
Total	699				
CV(%)		18,56	15,76	26,19	27,12
Média Geral		86,53	89,95	80,59	76,62

**Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	1	304,91**	1,80 ^{ns}	109,30 ^{ns}	25,42 ^{ns}
Modalidade de Aplicação (MA)	5	339,56**	159,27 ^{ns}	1442,56**	1498,30**
Cv x MA	5	72,29 ^{ns}	23,72 ^{ns}	93,91 ^{ns}	250,13 ^{ns}
Cv/1	1	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/2	1	232,96 ^{ns}	82,66 ^{ns}	155,77 ^{ns}	4,99 ^{ns}
Cv/3	1	3,03 ^{ns}	0,35 ^{ns}	3,25 ^{ns}	55,44 ^{ns}
Cv/4	1	352,10**	4,05 ^{ns}	36,03 ^{ns}	172,13 ^{ns}
Cv/5	1	3,35 ^{ns}	31,77 ^{ns}	376,48 ^{ns}	860,20 ^{ns}
Cv/6	1	74,39 ^{ns}	1,56 ^{ns}	4,31 ^{ns}	183,31 ^{ns}
MA/BRS245 RR	5	133,43 ^{ns}	60,36 ^{ns}	730,53 ^{ns}	756,98 ^{ns}
MA/BRS247 RR	5	278,42**	122,63 ^{ns}	805,33**	991,45**
Blocos	6	105,13	190,61	455,60	559,32
Resíduo	66	70,96	67,19	293,31	338,84
Total	83				
CV(%)		9,07	8,63	19,95	22,17
Média Geral		92,88	94,99	85,86	83,03

1= Testemunha sem aplicação

2= Aplicação seqüencial de fomesafen/fomesafen

3= Aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop]

4= Aplicação em dose única de fluazifop

5= Aplicação em dose única de glyphosate

6= Aplicação seqüencial de glyphosate/glyphosate

** Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO –2007**

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN

**IMPACTO DO GLYPHOSATE SOBRE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)
TRANSGÊNICA E SUA SIMBIOSE COM *Bradyrhizobium spp.***

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

APROVADA em 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Jamil Constantin

Prof. Dr. Robinson Luiz Contiero

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior
(Orientador)

Aos meus amados pais que me deram condições para chegar até aqui; sempre me apoiaram e fizeram de mim o que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo que está na Terra, Deus. Muito obrigado, oh! Pai por permitir que eu alcançasse este objetivo, por ter-me dado forças, perseverança e a certeza de que eu conseguiria, pois estou ao Seu lado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela imprescindível ajuda financeira.

Ao meu orientador, um obrigado mais que especial, Professor Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., que, honra como poucos o papel de professor e mestre; ajudou-me, apoiou-me, orientou-me, decepcionou-se e empolgou-se com fracassos e sucessos sempre ao meu lado, dando-me a garantia intelectual de que conseguiríamos.

Aos Professores Dr. Jamil Constantin, Dr. Carlos Alberto Scapim e Dr. Alessandro de Lucca e Braccini, pelo apoio e sugestões que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

À equipe de servidores do Laboratório de Plantas Daninhas – UEM – Maringá – PR., pois sem ela este trabalho não seria possível.

Aos colegas e amigos de Pós-graduação, pelo companheirismo e pela contribuição para meu crescimento intelectual.

Ao Luís Machado Homem e Milton Lopes da Silva por ajudarem sempre nos trabalhos a campo.

Aos verdadeiros amigos: Éder Blainski, Éverton Blainski, Rachel Muylaert Locks Guimarães e Sidnei Douglas Cavalieri pelo apoio e pelo ombro amigo nos momentos difíceis.

À minha família, em especial ao meu pai e minha mãe pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

À minha querida namorada e amiga Márcia Maria Parente Santini, sempre presente, apoiando-me, incentivando-me e dando força nos momentos difíceis.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma cooperaram para o planejamento e execução deste trabalho.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

ESLAUCO CÉSAR DVORANEN, filho de José Dvoranen e Amália Regina Dvoranen, nasceu na cidade de Marialva, Paraná, aos nove dias do mês de junho de 1980.

Em 2000, matriculou-se no Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Iniciou, no ano seguinte, com a participação em trabalhos de pesquisa com Plantas Daninhas, na orientação dos Professores Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr. e Dr. Jamil Constantin.

Graduou-se em março de 2005 e no mesmo mês iniciou o Curso de Pós-graduação em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá – Maringá - PR.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	2
INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR	2
Resumo	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 MATERIAL E MÉTODOS	6
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	26
EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR.	26
Resumo	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	40
CONCLUSÕES	44
APÊNDICE	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência ...	6
Tabela 2	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	7
Tabela 3	Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha ⁻¹ , épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja	8
Tabela 4	Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação	10
Tabela 5	Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	12
Tabela 6	Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	14
Tabela 7	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	16
Tabela 8	Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate	18
Tabela 9	Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	20
Tabela 1	Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006	33
Tabela 2	Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja	34

Tabela 3	Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN)	36
Tabela 4	Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas	39
Tabela 1A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1	46
Tabela 2A	Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2	47

RESUMO

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2007. **Impacto do glyphosate sobre soja (*Glycine max* (L.) Merrill) transgênica e sua simbiose com *Bradyrhizobium spp.*** Orientador: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-orientador: Dr. Jamil Constantin.

Foi realizado um estudo envolvendo dois experimentos em casa de vegetação, com soja transgênica resistente ao herbicida glyphosate (RR), com o objetivo de determinar e quantificar efeitos do herbicida glyphosate sobre as plantas de soja e seu simbiote: *Bradyrhizobium spp.* O primeiro experimento foi realizado com 20 cultivares de soja RR e cinco modalidades de aplicação do herbicida glyphosate. O segundo experimento contou com duas cultivares de soja RR e seis modalidades de aplicação com os herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate. Em ambos os experimentos, foram avaliados massa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). No primeiro experimento, o glyphosate mostrou-se inibitório para todas as variáveis analisadas em pelo menos uma das cultivares testadas. A variável mais prejudicada pelas aplicações de glyphosate foi NN, posteriormente MSNT, MSSR e MSPA, com apenas seis das 20 cultivares testadas apresentando alguma redução. Os resultados sugerem que o efeito sobre MSSR é mais dependente da modalidade de aplicação do que da dose. O efeito dos tratamento sobre MSPA depende do grupo de maturação das cultivares e da modalidade de aplicação, sendo menos evidente sobre cultivares precoces e aplicações em dose única. MSNT e NN são dependentes do material genético e do grupo de maturação em questão. No segundo experimento, os herbicidas fluazifop e glyphosate causaram redução nas variáveis MSSR, MSNT e NN em apenas uma das cultivares testadas.

Palavras-chave: fixação biológica do N₂, herbicida, nodulação, Rhizobium

ABSTRACT

DVORANEN, Eslauco César, M.S., Universidade Estadual de Maringá, February, 2007. **Impact of glyphosate on glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp.** Adviser: Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Co-adviser: Dr. Jamil Constantin.

A two-assay greenhouse study was conducted, with the objective of investigating and estimating the effects of the herbicide glyphosate both over glyphosate-resistant (GR) initial growth and over its symbiosis with *Bradyrhizobium* spp. The first assay was conducted with 20 GR cultivars and five modalities of glyphosate application. The second one was composed by two cultivars of GR soybean and six combinations of herbicide application including the herbicides fluazifop, fomesafen and glyphosate. For both assays, evaluations included root, shoot and nodules dry weight and number of nodules per plant. Glyphosate inhibited all plant growth parameters for at least one of the cultivars evaluated in the first experiment. The most sensitive parameter to glyphosate injuries was the number of nodules, followed by nodule dry weight, root dry weight, and shoot dry weight, showing only six of the twenty cultivars with reductions for at least one modality of glyphosate application. Results lead to the conclusion that the effect of glyphosate on root dry weight depends more upon modality of application than upon the applied rate. The effect of treatments on shoot dry weight depends upon maturation group and modality of herbicide application, being less evident for precocious cultivars and single herbicide applications. Nodule dry weight and number of nodules depend upon genetics and group of maturation. In the second experiment, the herbicides glyphosate and fluazifop provide reductions of root and nodule dry weight, as well as number of nodules in only of the two cultivars evaluated.

Key words: biological nitrogen fixation, herbicide, nodulation, Rhizobium

INTRODUÇÃO

A soja é a cultura que ocupa a maior área plantada no Brasil e é uma das principais culturas do mundo. Atualmente, os líderes mundiais na produção de soja são os Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, Índia e Paraguai. Esta cultura ocupa importante papel socioeconômico no cenário mundial e está se desenvolvendo tecnologicamente cada vez mais, em busca de melhores resultados de produtividade e lucratividade. Com o advento de novas técnicas de biotecnologia, foram criados diversos organismos geneticamente modificados (OGM). Dentre eles está a soja transgênica, que desde 1996 é cultivada nos Estados Unidos e desde 1997 na Argentina. Atualmente, o Brasil e diversos outros países também empregam a mesma tecnologia.

Atualmente, há diversos tipos de sojas transgênicas em fase de desenvolvimento. A principal delas é uma planta que recebeu um gene de outro organismo capaz de torná-la tolerante ao uso do glyphosate (RR). Esse gene foi extraído de uma bactéria do solo, conhecida por *Agrobacterium sp.*, e patenteadado por uma empresa privada com o nome CP4-EPSPS. Estruturalmente, é muito parecido com os genes que compõem o genoma de uma planta. Após inserido no genoma da soja tornou-se uma planta resistente à aplicação do herbicida.

Por se tratar de uma tecnologia muito nova, há poucos trabalhos, no mundo e, principalmente, no Brasil que estudam as características dessas plantas e sua ecofisiologia. Portanto, é necessário que se saiba cada vez mais sobre seu desenvolvimento e sua relação com o ambiente em que ela está inserida, avaliando-se todos os aspectos relacionados ao seu cultivo.

Esse trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de soja RR sob diversas modalidades de aplicação de glyphosate e outros herbicidas usados no manejo de plantas daninhas na soja, com ênfase no desenvolvimento inicial das plantas e na nodulação por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE SOBRE A NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE 20 CULTIVARES DE SOJA RR.

RESUMO. A soja resistente ao glyphosate (RR) é uma tecnologia que vem acrescentar mais uma ferramenta no manejo de plantas daninhas para a cultura com a maior área plantada em nosso país. Por se tratar de uma técnica muito recente tanto em nosso país quanto no mundo, necessitam-se de estudos que busquem informações úteis para o uso correto desta importante e cada vez mais freqüente prática agrícola: o cultivo de soja transgênica. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de glyphosate sobre 20 cultivares de soja RR. As doses utilizadas foram: Testemunha sem herbicida; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,54/0,36 kg equivalente ácido (EA) ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE); glyphosate em aplicação única de 0,72 kg EA ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,72/0,54 kg ha⁻¹, aos 12/24 DAE; glyphosate em aplicação única de 0,90 kg ha⁻¹, aos 24 DAE. Foram avaliadas as variáveis: matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN). As cultivares que demonstraram maior suscetibilidade às aplicações de glyphosate foram: MSOY 8008 RR, ANTA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, CD 219 RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR e BRS 247 RR apresentando reduções de pelo menos três das quatro variáveis estudadas. BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 246 RR, CD 214 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e BRS 245 RR foram as mais tolerantes, pois não sofreram reduções significativas em nenhuma ou apenas em uma das variáveis avaliadas. De modo geral, a MSSR foi mais afetada pela modalidade de aplicação do que pela dose de glyphosate; por outro lado, a MSPA e a nodulação foram mais afetadas em cultivares de ciclo mais longo em relação às variedades de ciclo precoce. A nodulação também foi menos afetada pelo glyphosate em variedades do grupo BRS em relação aos demais materiais genéticos.

1 INTRODUÇÃO

Glyphosate é um herbicida não-seletivo, de amplo-espectro, aplicado em pós-emergência, que controla uma grande gama de plantas daninhas, tais como: plantas de folhas largas, folhas estreitas e ciperáceas (FRANZ et al., 1997). Esse herbicida inibe a síntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas e microrganismos que possuem o ciclo do ácido chiquímico (JAWORSKI, 1972; FISHER et al., 1986). O mecanismo de ação do glyphosate é quase exclusivo, uma vez que apenas ele e o sulfosate inibem especificamente a enzima EPSPS que catalisa a condensação do ácido chiquímico à fosfoenolpiruvato (OLIVEIRA JR., 2001).

Os efeitos tóxicos do glyphosate podem ser atribuídos à (1) incapacidade dos organismos sintetizarem aminoácidos aromáticos; (2) ao dreno energético no organismo resultante da fosfoenolpiruvato (PEP) que gasta no acúmulo do chiquimato, 3-deoxy-D-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP) e ácidos hidroxibenzóicos; e (3) toxicidade dos intermediários do ciclo do ácido chiquímico acumulados (FISHER et al., 1986).

Porém, nem todos os organismos respondem da mesma forma a esse e a outros herbicidas, como foi constatado por Kapusta e Rouwenhorst (1973), Alagavadi e Reddy (1986), Kishinevsky et al. (1988) e Delannay et al. (1995). Santos et al. (2004) estudaram os efeitos de formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,00026 mM do equivalente ácido (EA) e constataram diferenças entre as estirpes de rizóbios assim como entre as formulações de glyphosate. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Estudos desenvolvidos por Moorman et al. (1992) mostraram inibição diferencial de crescimento entre estirpes de *B. japonicum* expostas a doses de 0,5 mM de glyphosate e à inibição de todas as estirpes testadas quando a dose foi elevada para 5 mM.

Nos Estados Unidos, centenas de variedades de soja transgênica resistentes ao glyphosate (RR), de diferentes grupos de maturação, encontram-se disponíveis no mercado. Segundo Zablutowicz e Reddy (2004), as respostas fisiológicas dessas variedades às aplicações de glyphosate podem variar em função de fatores como localização geográfica, condições ambientais, tipos de solo, população de rizóbios e outros fatores.

Efeitos do glyphosate na nodulação de variedades RR foram amplamente estudados por Reddy et al. (2000) e King et al. (2001). Em ambos estudos, vários parâmetros relacionados à nodulação em soja RR foram significativamente reduzidos pela aplicação de doses de glyphosate; entretanto, os resultados foram inconsistentes entre os estudos. Os estudos de Reddy et al. (2000) avaliaram os efeitos das aplicações foliares de duas doses de glyphosate (sal de isopropilamina) sobre a nodulação. Os resultados mostraram redução do número de nódulos, massa de nódulos e conteúdo de leghemoglobina para a dose de 0,84 kg de EA ha⁻¹. Porém, para o dobro desta dose não foram encontradas diferenças entre as plantas tratadas com glyphosate e as não-tratadas. Num segundo estudo desenvolvido por Reddy et al. (2000), constatou-se que aplicações em estádios precoces de desenvolvimento da soja (V1 e V3) não causaram efeitos nos parâmetros de nodulação avaliados, independente da dose aplicada. Entretanto, a aplicação mais tardia de 1,68 kg EA ha⁻¹ (três semanas após a semeadura) reduziu o número de nódulos, massa de nódulos, conteúdo de leghemoglobina e nitrogênio total da parte aérea.

Nos estudos de King et al. (2001), aplicações precoces de glyphosate (1,26 kg de EA ha⁻¹) aos cinco e 12 dias, após a emergência (DAE) (V1 e V2, respectivamente) diminuíram significativamente o acúmulo de biomassa nos nódulos em comparação com a testemunha sem aplicação aos 19 DAE em um dos dois estudos, porém o conteúdo de nitrogênio na parte aérea foi reduzido em ambos os estudos, em 34 e 36%. Aplicações mais tardias, aos 18, 25 e 32 DAE, não afetaram a biomassa de nódulos.

Efeitos negativos sobre o crescimento do sistema radicular de soja transgênica RR também foram observados em vários experimentos em casa de vegetação tanto em plantas dependentes da fixação simbiótica quanto em

plantas nutridas com fertilizante nitrogenado (REDDY et al., 2000; KING et al., 2001).

Apesar de tudo, em diversas avaliações feitas a campo por autores como Delannay et al. (1995), Gonzini et al. (1999), Nelson e Renner (1999), Reddy e Whiting (2000), Elmore et al. (2001), Krausz e Young (2001) e Reddy (2001) não foram encontradas reduções de produtividade de grãos relacionada à aplicação de glyphosate sobre variedades de soja RR.

No Brasil, o plantio foi legalmente autorizado em setembro de 2003, pela Medida Provisória n° 131, que no mesmo ano foi convertida na Lei n° 10.184, de 15 de dezembro de 2003. No entanto, a liberação para cultivo e comercialização gerou e ainda gera polêmica. Apesar dos impasses legais, segundo o relatório anual de 2006 do Serviço Internacional para a Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia (ISAAA), no Brasil, a área plantada com soja transgênica na safra 2005/06 foi de 11,4 milhões de hectares, ocupando a terceira posição entre os países que mais cultivam transgênicos no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina. Atualmente, o Brasil conta com aproximadamente 90 variedades de soja RR, de várias empresas de sementes, disponíveis para plantio. Entretanto, poucos estudos sobre os efeitos do glyphosate sobre variedades RR cultivadas, no Brasil, foram desenvolvidos. Há, desta forma, uma lacuna de conhecimento a respeito do comportamento destas variedades em relação ao glyphosate.

Deste modo, esse estudo tem como objetivo avaliar, em condições de casa de vegetação, a influência do glyphosate sobre a nodulação e o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular em 20 variedades de soja transgênica RR cultivadas no país.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 19 de dezembro de 2005 a 25 de março de 2006.

No trabalho, foram avaliadas 19 variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes das regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil e uma proveniente da Argentina. As variedades utilizadas foram BRS 245 RR; MSOY 8151 RR; AL 83 TROPICAL RR; CD 214 RR; BRS 242 RR; BRS 244 RR; CD 219 RR; MSOY 8008 RR; ANTA RR; BRS 243 RR; MSOY 6001 RR; CRISTALINA RR; BRS 247 RR; MSOY 9000 RR; CD 213 RR; MSOY 8100 RR; VALIOSA RR; MSOY 8000 RR; BRS 246 RR; Não Identificada (NI). As cultivares, grupos de maturação e respectivas procedências são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Variedades de soja RR, grupos de maturação e procedência.

Variedade	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR
Grupo de maturação	Semiprecoce	Semitardio	Semitardio	Precoce	Precoce	Semiprecoce	Médio	Semitardio	-	Precoce
Procedência	Toledo PR	Goiânia GO	Rondonópolis MT	Toledo PR	Toledo PR	Toledo PR	Jataí GO	Goiânia GO	Ponta Grossa PR	Toledo PR
Variedade	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALIOSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI*
Grupo de maturação	Precoce	Tardio	Médio	Tardio	Precoce	Semitardio	Tardio	Semitardio	Semiprecoce	-
Procedência	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Toledo PR	Chapadão do Sul MS	Ponta Grossa PR	Ponta Grossa PR	Adamantina SP	Goiânia GO	Toledo PR	Argentina

* NI: Obtida através de produtor rural que não soube informar de que variedade se tratava.
- Dados não-disponíveis.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 2. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3x10⁹ rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 2 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

Ph	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C	
CaCl ₂	H ₂ O	cmolc dm ⁻³					mg dm ⁻³		g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte		Argila			
g kg ⁻¹										
370		320			80		230			

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as 20 variedades de soja RR e cinco modalidades de aplicação de glyphosate. Os níveis das aplicações com glyphosate foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,54/0,36 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial I); aplicação única de glyphosate: 0,72 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) (dose única I); aplicação seqüencial de glyphosate: 0,72/0,54 kg EA ha⁻¹ (12 e 24 DAE) (seqüencial II); e

aplicação única de glyphosate: 0,90 kg EA ha⁻¹ (24 DAE) (dose única II). As doses das aplicações com glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate por hectare. A lista com as modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação de glyphosate e estádios de desenvolvimento da soja é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Modalidades de aplicação com glyphosate, doses em kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja.

Modalidade de aplicação	Dose em kg EA ha ⁻¹	Época de aplicação	Estádio da soja
Testemunha sem aplicação	-	-	-
Aplicação Sequencial I (SI)	0,54/0,36	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única I (DUI)	0,72	20 DAE	V4
Aplicação Sequencial II (SII)	0,72/0,54	12/24 DAE	V3/V5
Aplicação em Dose Única II (DUII)	0,90	24 DAE	V5

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçados a 50 cm entre si, posicionada na altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião das aplicações, as condições de temperatura estavam entre 23 e 29°C, umidade relativa do ar entre 74 e 89%, solo úmido, velocidade do vento entre 5 e 10 km h⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estádio R3, as plantas foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C

até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foram avaliados matéria seca de parte aérea e do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000). Posteriormente, as cultivares foram agrupadas por materiais genéticos, grupos de maturação e modalidades de aplicação e submetidas a testes por contrastes. Os contrastes desenvolvidos foram:

$$\begin{aligned}\hat{C}_1 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} \\ &- \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000}; \\ \hat{C}_2 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{BRS247} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} - 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_3 &= \hat{\mu}_{MSOY6001} + \hat{\mu}_{MSOY8000} + \hat{\mu}_{MSOY8008} + \hat{\mu}_{MSOY8100} + \hat{\mu}_{MSOY8151} + \hat{\mu}_{MSOY9000} - 2\hat{\mu}_{CD213} - 2\hat{\mu}_{CD214} \\ &- 2\hat{\mu}_{CD219}; \\ \hat{C}_4 &= \hat{\mu}_{BRS242} + \hat{\mu}_{BRS243} + \hat{\mu}_{BRS244} + \hat{\mu}_{BRS245} + \hat{\mu}_{BRS246} + \hat{\mu}_{CD213} + \hat{\mu}_{CD214} + \hat{\mu}_{MSOY6001} - \hat{\mu}_{BRS247} - \\ &\hat{\mu}_{CD219} - \hat{\mu}_{MSOY8000} - \hat{\mu}_{MSOY8008} - \hat{\mu}_{MSOY8100} - \hat{\mu}_{MSOY8151} - \hat{\mu}_{MSOY9000} - \hat{\mu}_{VALIOSA}; \\ \hat{C}_5 &= \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_6 &= \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_7 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_8 &= \hat{\mu}_{SI} + \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{SII} - \hat{\mu}_{DUII}; \\ \hat{C}_9 &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{SI} - \hat{\mu}_{SII}; \\ \hat{C}_{10} &= 2\hat{\mu}_{TESTEMUNHA} - \hat{\mu}_{DUI} - \hat{\mu}_{DUII};\end{aligned}$$

de modo que, \hat{C}_n é a estimativa do contraste e $\hat{\mu}$ é a média de cada tratamento.

As cultivares, as modalidades de aplicação e os respectivos contrastes formados estão mostrados na Tabela 4. O objetivo da comparação dos dados por contraste foi criar grupos com semelhanças entre si para facilitar a visualização dos efeitos das cultivares e dos tratamentos sobre as variáveis-resposta avaliadas.

Tabela 4 – Contrastes entre cultivares e modalidades de aplicação.

Contrastes			Componentes de cada grupo nos contrastes			
			Cultivares			
\hat{C}_1	Cultivares BRS	vs	Cultivares Monsoy	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR
\hat{C}_2	Cultivares BRS	vs	Cultivares CD	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR e BRS 247RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_3	Cultivares Monsoy	vs	Cultivares CD	MSOY 6001 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR	vs	CD 213 RR, CD 214 RR e CD 219 RR
\hat{C}_4	Cultivares precoces	vs	Cultivares não-precoces	BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, CD 213 RR, CD 214 RR e MSOY 6001 RR	vs	BRS 247 RR, CD 219 RR, MSOY 8000 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, MSOY 8151 RR e MSOY 9000 RR e VALIOSA RR
Modalidades de aplicação						
\hat{C}_5	SI	vs	SII	0,54/0,36 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)	vs	0,72/0,54 kg EA ha ⁻¹ (12 e 24 DAE)
\hat{C}_6	DUI	vs	DUII	0,72 kg EA ha ⁻¹ (20 DAE)	vs	0,90 kg EA ha ⁻¹ (24 DAE)
\hat{C}_7	Seqüenciais	vs	Doses Únicas	SI e SII	vs	DUI e DUII
\hat{C}_8	Doses I	vs	Doses II	SI e DUI	vs	SII e DUII
\hat{C}_9	Testemunha	vs	Seqüenciais	Testemunha sem aplicação	vs	SI e SII
\hat{C}_{10}	Testemunha	vs	Doses Únicas	Testemunha sem aplicação	vs	DUI e DUII

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito de redução de matéria seca de nódulos totais (MSNT) acumulados (Tabela 5) em plantas das variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A variedade CRISTALINA RR teve sua MSNT afetada pelas duas modalidades de aplicação seqüencial (SI e SII) e pela dose única mais alta (DUII). A variedade CD 213 RR foi a que sofreu maior influência das aplicações de glyphosate em relação à testemunha. Para esta variedade, os tratamentos com dose maior (SII e DUII) reduziram em até 61,4% a MSNT, e os tratamentos com dose menor (SI e DUI) em até 35,8%. As variedades CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram a MSNT reduzida em intensidade semelhante, em relação à testemunha, por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, DUI, SII e DUII), porém as aplicações herbicidas não diferiram entre si. As variedades BRS 245 RR, MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, BRS 247 RR, MSOY 9000 e BRS 246 RR não tiveram as suas respectivas MSNT afetadas por nenhuma das modalidades de aplicação quando comparadas com a testemunha.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença apenas na aplicação da maior dose única. As cultivares MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR e CD 213 RR apresentaram maior redução em relação às outras cultivares.

Jaworski (1972), Eberbach e Douglas (1989), Liu et al. (1991), Martensson (1992), Moorman et al. (1992), Hernandez et al. (1999), Reddy et al. (2000) encontraram efeitos de inibição de crescimento de rizóbios e nodulação em plantas de diversas espécies tratadas com glyphosate, cujos efeitos variaram de acordo com doses, espécies, e épocas de aplicação. Os resultados encontrados no presente trabalho se assemelham a esses resultados, e sugerem que as respostas às aplicações não são uniformes em relação aos materiais testados nem com relação à modalidade de aplicação.

Tabela 5 – Produção relativa de matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca de Nódulos Totais Acumulados (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{3/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	83,7aA	89,6aA	72,1aA	85,1aA	78,8aA	79,1aA	82,7bA	73,1bA	78,2bA	82,0aA	74,9bA	70,7bA	77,3aA	85,2aA	72,2bA	66,0bA	71,4bA	70,4bA	74,3aA	71,9bA
DUI ^{6/}	78,1aA	80,9aA	90,3aA	92,4aA	66,9aA	73,5aA	70,6bA	81,5bA	62,3bA	84,5aA	69,3bA	86,6aA	81,3aA	91,0aA	64,2bA	71,1bA	70,9bA	72,5bA	86,6aA	73,6bA
SII ^{7/}	89,2aA	83,2aA	80,1aA	77,0aA	78,7aA	81,2aA	70,3bA	71,5bA	69,2bA	86,8aA	68,8bA	70,2bA	73,2aA	85,6aA	49,0cA	66,1bA	67,7bA	68,2bA	88,5aA	71,7bA
DUII ^{8/}	76,6aA	84,5aA	76,0aA	83,0aA	83,0aA	81,7aA	71,3bA	61,6bB	67,5bA	86,3aA	57,0bB	74,2bA	82,8aA	78,8aA	38,6cB	72,5bA	73,2bA	69,0bA	89,9aA	69,3bA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Bohrer e Hungria (1998) correlacionaram MSNT com a quantidade de nitrogênio total da parte aérea e encontraram correlações elevadas e significativas. Uma vez que o nitrogênio total obtido pela parte aérea das plantas é determinante na produtividade de grãos e no teor de proteínas dos mesmos e que este nitrogênio provém basicamente da atividade dos nódulos, é possível inferir que os resultados ora apresentados possam contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

O número de nódulos acumulados por vaso (NN) (Tabela 6) foi reduzido pelas quatro modalidades de aplicação em intensidade semelhante em relação às respectivas testemunhas para as cultivares AL 83 TROPICAL, CD 214 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI. A cultivar CD 213 RR foi a mais afetada pelas aplicações nesta variável, apresentando reduções de até 68,1% para as modalidades de aplicação com dose maior (SII e DUII), 39,8% para DUI e 28,3% para SI. BRS 242 RR apresentou redução em todas as modalidades de aplicação, com exceção da DUII. Uma hipótese para essa resposta diferencial para a dose única maior pode ser a diferença de quatro dias em relação à aplicação da DUI.

A comparação entre as cultivares apresentou diferença nas aplicações com dose única (DUI e DUII) e na aplicação seqüencial com dose maior (SII). Na aplicação com dose única menor (DUI), as cultivares BRS 244 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI apresentaram maior redução do número de nódulos em relação às outras cultivares. Na aplicação seqüencial com dose maior (SII), as cultivares CD 214 RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR, MSOY 8100 RR, VALIOSA RR, MSOY 8000 RR e NI tiveram maior redução em relação às outras cultivares para esta variável. Para aplicação com dose única maior (DUII), formaram-se três grupos. As cultivares AL 83 TROPICAL RR, CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8100 RR e MSOY 8000 RR formaram o grupo intermediário de redução para esta variável. Apresentando menor redução de número de nódulos em relação às cultivares CD 213 RR e NI e maior redução desta variável em relação às demais cultivares.

Tabela 6 – Produção relativa de número de nódulos (NN) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIETADE MA ^{3/}	Número de Nódulos Acumulados (%) ^{1/}																			
	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	82,6aA	80,8aA	67,1bA	74,3bA	79,5bA	72,3bA	74,5bA	66,5bA	68,1bA	75,6aA	76,1bA	67,9bA	67,1bA	81,0aA	71,7bA	56,5bA	69,1bA	59,9bA	68,6aA	65,2bA
DUI ^{6/}	79,3aA	79,7aA	80,2bA	82,3bA	74,0bA	72,3bB	70,2bB	71,7bB	60,8bB	83,6aA	63,2bB	79,8bA	77,9bA	82,4aA	60,2cB	64,4bB	60,9bB	60,2bB	92,2aA	63,6bB
SII ^{7/}	87,1aA	78,7aA	73,0bA	68,1bB	75,1bA	79,2bA	62,4bB	63,0bB	62,5bB	90,9aA	65,3bB	71,0bB	68,9bB	82,4aA	42,1dB	57,1bB	68,4bB	61,5bB	84,6aA	62,2bB
DUII ^{8/}	78,6aA	84,3aA	62,2bB	73,9bA	97,0aA	79,6bA	63,6bB	52,9bB	65,3bB	80,4aA	60,2bB	73,2bA	75,2bA	67,5aB	31,9dC	63,5bB	70,7bA	63,4bB	84,5aA	47,7bC

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Estudos realizados por Reddy et al. (2000) encontraram redução do número de nódulos em soja convencional tratadas com doses subletais de glyphosate e soja RR tratadas com doses de glyphosate variando de 1,12 a 2,24 kg EA ha⁻¹. Porém, estes efeitos variaram de acordo com época de aplicação e dose. Estes efeitos não se repetiram em trabalho realizado por Reddy e Zablotowicz (2003), os quais encontraram redução do acúmulo de matéria seca de nódulos sem que houvesse redução no número de nódulos acumulados em cultivares de soja RR tratadas com aplicações de 0,84 kg EA ha⁻¹ de vários saís de glyphosate.

A matéria seca do sistema radicular (MSSR) (Tabela 7) foi afetada por pelo menos uma das modalidades de aplicação de glyphosate nas variedades BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR, CD 213 RR e MSOY 8100 RR. A variedade ANTA RR teve a MSSR reduzida pelas duas modalidades de aplicação em dose única (DUI e DUII) em até 28,2% em relação à testemunha. A variedade MSOY 8100 RR apresentou redução (32,4%) de MSSR apenas na aplicação seqüencial com dose maior de glyphosate (SII). A cultivar CRISTALINA RR apresentou reduções de até 23,1% para ambas as aplicações seqüenciais (SI e SII). As cultivares BRS 245 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR tiveram a MSSR reduzida em intensidade semelhante por todas as modalidades de aplicação de glyphosate (SI, SII, DUI e DUII) quando comparadas com suas respectivas testemunhas. As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, CD 219 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246, VALIOSA e NI não tiveram MSSR afetada por nenhuma das modalidades de aplicação com glyphosate.

Comparando as cultivares, observa-se que as cultivares BRS 245 RR, BRS 247 RR e CD 213 RR foram mais afetadas que as demais nas aplicações SII e DUII. A cultivar MSOY 8100 foi mais afetada que as demais, apenas na modalidade de aplicação seqüencial maior (SII). As cultivares CD 219 RR, MSOY 8008 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR e VALIOSA RR tiveram a MSSR mais reduzida que as demais variedades apenas na modalidade de aplicação com dose única maior (DUII). As cultivares MSOY 8151 RR, AL 83 TROPICAL RR, CD 214 RR, BRS 242 RR, BRS 244 RR, BRS 243 RR, MSOY 9000 RR, MSOY 8000 RR, BRS 246 RR e NI apresentaram produção de MSSR semelhantes entre si e superior em relação às demais cultivares.

Tabela 7 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

Matéria Seca do Sistema Radicular (%) ^{1/}																				
VARIETADE MA ^{3/}	BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA
SI ^{5/}	77,9bA	81,0aA	81,9aA	96,3aA	78,5aA	77,4aA	79,2aA	80,9bA	88,1aA	91,0aA	73,7Ba	85,1bA	65,8bA	89,6aA	71,3bA	86,4aA	89,2aA	84,2aA	91,1aA	81,9aA
DUI ^{6/}	84,9bA	88,9aA	96,7aA	95,4aA	80,1aA	88,7aA	84,3aA	87,0bA	73,9bA	91,1aA	79,1Ba	98,2aA	78,1bA	90,0aA	77,9bA	83,0aA	82,8aA	81,7aA	89,2aA	93,3aA
SII ^{7/}	69,6bB	87,7aA	94,6aA	87,7aA	86,6aA	83,6aA	82,1aA	77,0bA	86,6aA	87,9aA	78,7bA	76,9bA	59,5bB	89,0aA	62,7bB	67,6bB	81,7aA	79,2aA	89,1aA	85,6aA
DUII ^{8/}	73,6bB	90,4aA	85,8aA	93,9aA	86,0aA	88,3aA	80,7aB	76,7bB	71,8bB	92,4aA	65,7bB	90,5aA	71,0bB	90,6aA	74,2bB	89,2aA	77,7aB	86,6aA	95,0aA	84,2aA

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Seqüencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Seqüencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

Esses resultados concordam com os encontrados por King et al. (2001), quando estudaram o crescimento e a atividade da nitrogenase em diversas cultivares de soja RR e encontraram diferentes respostas das cultivares para a variável MSSR, ora diminuindo o acúmulo de matéria seca ora mantendo-o. Por outro lado, Reddy e Zablotowicz (2003) encontraram resultados que diferem dos obtidos neste trabalho e constataram a recuperação da planta tratada por glyphosate 14 dias após a aplicação, equiparando sua MSSR com a da testemunha sem herbicida.

Em relação ao acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 8), pouco se observou de redução significativa das modalidades de aplicação em relação às respectivas testemunhas. De modo geral, as modalidades de aplicação de glyphosate tiveram menor efeito sobre a MSPA do que sobre a MSSR. Reduções significativas da MSPA ocorreram nas cultivares MSOY 8008 RR, CRISTALINA RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR, as quais foram afetadas pelas quatro modalidades de aplicação de glyphosate em intensidades semelhantes em relação às suas respectivas testemunhas sem aplicação. E nas cultivares CD 213 RR e AL 83 TROPICAL RR que apresentaram redução nas modalidades de aplicação SI, SII e DU11 para a primeira cultivar e SI e DU11, para a segunda cultivar, respectivamente. Comparações entre as cultivares não apresentaram diferença significativa para nenhuma das modalidades de aplicação. King et al. (2001) testaram o efeito do glyphosate sobre plantas totalmente dependentes da nodulação para obtenção de nitrogênio e plantas supridas com nitrogênio mineral. Observou-se decréscimo na biomassa da parte aérea das plantas supridas ou não com nitrogênio. Esse fato sugere possível efeito direto negativo do glyphosate sobre a produção de matéria seca da parte aérea sem que a redução na nodulação seja a principal responsável por este decréscimo. Isto demonstra que os resultados obtidos no presente trabalho, apesar de terem sido observados em apenas seis das 20 cultivares testadas, já foram constatados por outros autores. Reddy et al. (2000) também encontraram diminuição da matéria seca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular de plantas de soja RR tratadas com glyphosate em comparação com a testemunha

Tabela 8 – Produção relativa de matéria seca da parte aérea (MSPA) em 20 variedades de soja RR em função de cinco modalidades de aplicação com glyphosate.

VARIEDADE MA ^{3/}		Matéria Seca da Parte Aérea (%) ^{1/}																			
		BRS 245 RR	MSOY 8151 RR	AL 83 TROPICAL RR	CD 214 RR	BRS 242 RR	BRS 244 RR	CD 219 RR	MSOY 8008 RR	ANTA RR	BRS 243 RR	MSOY 6001 RR	CRISTA LINA RR	BRS 247 RR	MSOY 9000 RR	CD 213 RR	MSOY 8100 RR	VALI OSA RR	MSOY 8000 RR	BRS 246 RR	NI
Test ^{4/}	100,0aA ^{2/}	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	100,0aA	
SI ^{5/}	89,4aA	87,7aA	81,1bA	92,0aA	89,9aA	80,6aA	84,5aA	82,9bA	100,0aA	94,4aA	77,7aA	79,0bA	78,9bA	88,6aA	88,1bA	83,5aA	83,2bA	84,5aA	88,6aA	89,8aA	
DUI ^{6/}	88,1aA	87,9aA	99,3aA	94,0aA	85,7aA	91,0aA	83,4aA	79,8bA	94,7aA	96,7aA	89,5aA	88,8bA	85,1bA	90,2aA	97,8aA	90,5aA	78,8bA	87,3aA	93,5aA	95,0aA	
SII ^{7/}	85,9aA	88,1aA	95,1aA	87,2aA	93,5aA	90,8aA	82,4aA	84,5bA	89,0aA	90,9aA	90,8aA	85,5bA	80,6bA	87,6aA	84,9bA	84,9aA	81,2bA	85,7aA	91,5aA	89,2aA	
DUII ^{8/}	85,4aA	89,1aA	85,0bA	88,1aA	94,3aA	86,1aA	86,0aA	74,5bA	93,1aA	92,4aA	84,9aA	79,7bA	87,4bA	86,2aA	79,9bA	90,3aA	87,2bA	81,9aA	91,0aA	84,6aA	

^{1/} Porcentagem dos tratamentos em relação à testemunha

^{2/} Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

^{3/} MA: Modalidade de aplicação

^{4/} Test: Testemunha sem herbicida

^{5/} SI: Aplicação Sequencial I

^{6/} DUI: Dose Única I

^{7/} SII: Aplicação Sequencial II

^{8/} DUII: Dose Única II

sem herbicida, no entanto, esses resultados só foram possíveis com o dobro da dose máxima utilizada no presente trabalho, mostrando assim a existência de um potencial de injúria que o glyphosate pode ter sobre plantas de soja RR tratadas com doses maiores. Uma hipótese para as reduções ocorridas no acúmulo de MSPA e MSSR é processo de degradação do glyphosate dentro da planta, que resulta na formação de um determinado subproduto, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004).

CD 219 RR, ANTA RR, MSOY 6001 RR, BRS 247 RR, MSOY 8100 RR e VALIOSA RR apresentaram redução de três das quatro variáveis avaliadas em pelo uma das quatro modalidades de aplicação de glyphosate, quando comparadas à testemunha. No entanto, não foi encontrado, entre as cultivares um padrão de redução em relação às modalidades de aplicação, já que a cultivar ANTA RR teve a MSSR afetada apenas pelas aplicações em dose única (DUI e DUII). Por outro lado, MSOY 8100 teve redução da mesma variável apenas na modalidade de aplicação SII, demonstrando que cada cultivar responde de forma diferente às aplicações de glyphosate. Em MSOY 6001 RR, as quatro modalidades de aplicação causaram redução em relação à testemunha nas três variáveis citadas (MSNT, MSSR e NN), apresentando desta forma mais um padrão de resposta em relação aos tratamentos.

Segundo os resultados obtidos, podemos agrupar as cultivares em três grupos segundo a tolerância às aplicações de glyphosate. As cultivares BRS 242 RR, BRS 243 RR, BRS 244 RR, BRS 245 RR, BRS 246 RR, MSOY 8151 RR, MSOY 9000 RR e CD 214 RR apresentaram redução de nenhuma ou de apenas uma das variáveis comparadas com suas respectivas testemunhas, sugerindo ser um grupo de maior tolerância às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação testadas neste experimento. As cultivares ANTA RR, CRISTALINA RR, MSOY 6001 RR, MSOY 8008 RR, MSOY 8100 RR, CD 213 RR, BRS 247 RR e VALIOSA RR foram as mais afetadas pelas aplicações de glyphosate, sendo que pelo menos três das quatro variáveis analisadas (MSNT, MSSR, MSPA, NN) foram reduzidas por pelo menos uma das modalidades de aplicação, indicando se tratar de um grupo menos tolerante às aplicações de glyphosate nas doses e modalidades de aplicação

testadas nesse experimento. O grupo de tolerância intermediária conta com apenas quatro cultivares: AL 83 TROPICAL, CD 219 RR, MSOY 8000 RR e NI.

Os testes com contrastes permitiram classificar os efeitos das modalidades de aplicação e das cultivares sobre as variáveis-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN) estudadas (Tabela 9).

Tabela 9 – Contrastes entre cultivares, grupos de maturação e modalidades de aplicação utilizadas no experimento, estimativas obtidas e probabilidade de significância para o teste F das variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Contrastes		MSSR		MSPA		MSNT		NN	
Coeficientes Θ	Coeficientes Θ	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f	Estimativas dos Contrastes	Pr>f
Cultivares BRS	vs Cultivares Monsoy	-0,24	0,87	+2,43	0,08	+5,05	0,01	+8,80	<0,01
Cultivares BRS	vs Cultivares CD	+0,16	0,93	+1,30	0,44	+7,70	<0,01	+11,85	<0,01
Cultivares Monsoy	vs Cultivares CD	+0,40	0,83	+1,13	0,50	-2,65	0,29	-3,04	0,22
Cultivares precoces	vs Cultivares não-precoces	+0,99	0,46	+3,45	<0,01	+1,15	0,51	+4,49	0,01
SI	vs SII	+1,86	0,33	-1,25	0,45	+2,11	0,40	+1,03	0,67
DUI	vs DUII	+3,04	0,11	+3,39	0,04	+3,56	0,15	+4,16	0,09
Seqüenciais	vs Doses Únicas	-3,13*	0,02	-1,20	0,31	+0,25	0,88	-0,16	0,92
Doses I	vs Doses II	+2,45	0,07	+1,07	0,37	+2,83	0,11	+2,59	0,13
Testemunha	vs Seqüenciais	+18,40	<0,01	+13,16	<0,01	+24,12	<0,01	+29,30	<0,01
Testemunha	vs Doses Únicas	+15,26	<0,01	+11,95	<0,01	+24,38	<0,01	+29,13	<0,01

* As estimativas apresentadas em negrito são significativas pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os contrastes feitos entre modalidades de aplicação seqüenciais *versus* testemunha e doses únicas *versus* testemunha foram os únicos significativos para todas as variáveis-resposta analisadas. Em ambos os casos, houve superioridade das médias da testemunha em relação às modalidades de aplicação para as quatro variáveis estudadas (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Isto

sugere efeito de redução das variáveis-resposta quando submetidas às modalidades de aplicação analisadas por este experimento em relação à testemunha sem aplicação.

As comparações feitas entre os contrastes estabelecidos demonstraram diferença significativa para a MSSR apenas no contraste feito entre as aplicações seqüenciais e aplicações com dose única e os contrastes entre testemunha e modalidades de aplicação. Isto demonstra resposta melhor desta variável para as aplicações em dose única. Desta forma, essa variável-resposta depende mais da modalidade de aplicação do que das doses de glyphosate testadas, material genético ou grupo de maturação. Isto possivelmente se deve ao fato da maior capacidade de metabolização do glyphosate e seus subprodutos em aplicação em dose única. Segundo Monquero (2003), diversos trabalhos demonstram as vantagens de aplicação seqüencial de glyphosate em relação a uma única aplicação sobre o controle de plantas daninhas de difícil controle, cujo fato sugere que o grau de injúria nas plantas é maior nas aplicações seqüenciais em relação à aplicação única, o que pode ser aplicado também aos resultados obtidos para soja RR, nesse trabalho, em relação à MSSR.

Para MSPA, os contrastes que apresentaram significância foram grupos de maturação e comparação entre doses únicas, além dos citados anteriormente, sugerindo que a MSPA é dependente do grupo de maturação das cultivares de soja, e se tratadas com aplicações em doses únicas respondem melhor às doses menores. Uma possível explicação para este fato poderia ser a grande dependência da soja em relação ao ambiente em que está inserida, uma vez que a planta depende de fatores como temperatura e fotoperíodo para que seu desenvolvimento e floração sejam satisfatórios (EMBRAPA, 2006).

A variável MSNT demonstrou uma forte dependência do material genético da cultivar em questão, já que nenhum outro grupo testado pelos contrastes, além dos contrastes entre testemunhas e modalidades de aplicação, apresentou diferença significativa, demonstrando superioridade de acúmulo de MSNT nas cultivares BRS testadas em relação às cultivares MONSOY e CD. A importância do genótipo da soja para o bom desempenho do processo da fixação biológica do N₂ já havia sido ressaltada desde os

primeiros ensaios conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; ARRUDA, 1967). Segundo Bohrer e Hungria (1998), na ausência de uma avaliação contínua das características relacionadas à fixação do N₂, nos programas de melhoramento, pode ocorrer perdas genéticas em relação à capacidade simbiótica.

O número de nódulos (NN) foi afetado por dois dos fatores testados, além das modalidades de aplicação em relação à testemunha. Um dos fatores foi o mesmo que influencia a MSNT, ou seja, o material genético das cultivares em questão. O segundo fator (grupo de maturação) apresentou as cultivares precoces como mais favoráveis ao acúmulo de NN. Uma possível hipótese para esta superioridade do grupo precoce em relação ao não-precoce pode estar relacionada ao período de início de formação dos nódulos. Nas precoces, esse período, possivelmente, é menor que nas não-precoces, e, portanto, influenciado pelas aplicações mais tardias (2^{as} aplicações seqüenciais e as duas aplicações em dose única).

Tais informações são de grande importância, pois associam cada parte do desenvolvimento da planta (variáveis-resposta) a uma determinada fonte de variação. Desta forma, é possível inferir qual fonte de variação (material genético, grupo de maturação ou modalidades de aplicação) interfere numa determinada variável-resposta (MSSR, MSPA, MSNT e NN). Tal análise permite inferências que podem contribuir na seleção de materiais menos sensíveis à aplicação de glyphosate.

De modo geral, MSSR é independente do grupo de cultivar, variando segundo a modalidade de aplicação de glyphosate. MSPA apresenta uma tendência de melhor desempenho para as cultivares precoces em relação às cultivares não-precoces. E em caso de uso de aplicação em dose única, as doses menores causaram menores reduções nessa variável. Em MSNT e NN, observa-se um efeito evidente do material genético em questão, e o grupo de cultivares BRS apresentou melhor desempenho de nodulação em relação aos demais grupos, após aplicações de glyphosate. Além disso, as cultivares mais precoces tendem a nodular em maior número quando expostas às situações ora apresentadas.

Todas as doses e modalidades de aplicação de glyphosate causaram redução em todas as variáveis avaliadas. Os efeitos do glyphosate sobre a soja RR são dependentes de fatores como: variedade, grupo de maturação, época de aplicação e dose.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, 20(6):27-30, 1986.

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS,C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, 35:1461-1467, 1995.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:475-487, 1967.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, 119:15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, 93:408-412, 2001.

EMBRAPA. Exigências Climáticas. In: EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2007**. Londrina: Embrapa, 2006. 217 p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FISHER, R.S.; BERRY, A.; GAINES, C.G.; JENSEN, R.A. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in Eubacteria. **Journal of Bacteriology**, 168:1147–1154, 1986.

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

GONZINI, L.C.; HART, S.E.; WAX, L.M. Herbicide combinations for weed management in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, 13:354–360, 1999.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 47:2920-2925, 1999.

JAWORSKI, E.G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: Inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 20:1195-1198, 1972.

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, 65:112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, 28:291-296, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to trimethylsulfonium and isopropylamine salts of glyphosate. **Weed Technology**, 15:745–749, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, 57:1799-1804, 1991.

MARTENSSON, A.M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biology Biochemistry**, 24:435-445, 1992.

MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 99 p. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia).

MOORMAN, T.B.; BECERRIL, J.M.; LYDON, J.; DUKE, S.O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 40:289-293, 1992.

NELSON, K.A.; RENNER, K.A. Weed management in wide- and narrow-row glyphosate resistant soybean. **Journal of Production Agriculture**, 12:460–465, 1999.

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

REDDY, K.N. Weed management in transgenic soybean resistant to glyphosate under conventional tillage and no-tillage systems. **Journal of New Seeds**, 3:27–40, 2001.

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

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

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, 14:204–211, 2000.

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

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

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, 33:825-831, 2004.

CAPÍTULO II

EFEITOS DE GLYPHOSATE, FLUAZIFOP E FOMESAFEN SOBRE NODULAÇÃO E CRESCIMENTO DE DUAS CULTIVARES DE SOJA RR

RESUMO. A principal fonte de nitrogênio para nutrição da planta é proveniente da fixação biológica do nitrogênio promovida pelas bactérias simbiotes *Bradyrhizobium spp.* presentes nas raízes da cultura, constituindo desta forma importantes instrumentos no desenvolvimento e produtividade de soja. Esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados pelas aplicações de herbicidas sobre duas cultivares de soja RR, BRS 245 RR e BRS 247 RR, organizados num arranjo fatorial 6 x 2 com sete repetições. Os seis níveis de aplicação de herbicida foram: testemunha sem herbicida, fomesafen em aplicação seqüencial de 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 dias após a emergência (DAE), fomesafen/[fomesafen+fluazifop] em aplicação seqüencial de 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹, aos 12/24 DAE, fluazifop em aplicação única de 0,125 kg i.a. ha⁻¹, aos 20 DAE; glyphosate em aplicação seqüencial de 0,540/0,360 kg de equivalente ácido (EA) ha⁻¹ e glyphosate em aplicação única de 0,720 kg EA ha⁻¹ aos 12/24 DAE e 20 DAE, respectivamente. Foram avaliadas as variáveis matéria seca do sistema radicular, matéria seca da parte aérea, matéria seca dos nódulos acumulados e número de nódulos acumulados. A cultivar BRS 247 RR foi afetada negativamente pelos tratamentos com glyphosate em aplicação única, e pelos tratamentos com fluazifop. A cultivar BRS 245 RR mostrou-se mais tolerante às aplicações dos herbicidas não apresentando redução em nenhuma das variáveis analisadas.

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada pela simbiose com bactérias da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* ou ambas (HUNGRIA et al., 1999), em soja. Os nódulos radiculares, centros de fixação, assimilação e exportação do nitrogênio fixado são formados após as bactérias entrarem em contato e penetrarem nas raízes da planta hospedeira, via células radiculares pilosas ou outras células epidérmicas. Após a penetração, formam-se os fios ou cordões de infecção que atingem o córtex da raiz, subdividem-se e se associam a pequenos grupos de células que darão origem aos nódulos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Quanto ao desenvolvimento da nodulação em campo, estudos indicam o aparecimento, na primeira semana após a emergência, de quatro a oito primeiros nódulos na coroa da raiz. Na segunda semana, a fixação biológica do nitrogênio já está ocorrendo (HUNGRIA et al., 1999) e continuará durante todo o ciclo da planta, atingindo seu ponto máximo no estágio de floração plena e declinando, a partir do enchimento das sementes.

Avanços na biotecnologia resultaram na criação de cultivares de soja resistentes ao glyphosate (RR), proporcionando uma opção eficaz de amplo espectro de controle pós-emergente de plantas daninhas. Glyphosate inibe a 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), uma enzima da rota do chiquimato que leva à síntese dos aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano (DUKE, 1988). As cultivares de soja RR contêm a enzima EPSPS proveniente de *Agrobacterium* sp. (PADGETTE et al., 1995) que são resistentes ao glyphosate. Apesar disso, os simbioses fixadores de N₂ presentes nas raízes da soja, *Bradyrhizobium* spp., contêm a forma sensível desta enzima (JAWORSKI, 1972; MOORMAN et al., 1992).

Segundo Marenco et al. (1993) e Santos et al. (2004), a aplicação de herbicidas sobre culturas que realizam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico pode prejudicar a eficiência na assimilação desse nutriente. Tais prejuízos devem-se à interferência do herbicida no metabolismo do microsimbionte, na planta hospedeira ou em ambos, quando em

associação (ARRUDA et al., 2001). Aplicações de herbicidas, dependendo da dose, mecanismo de ação, presença de microrganismos e sua sensibilidade destes aos princípios ativos, podem trazer conseqüências indesejáveis para a microbiota (ROYUELA et al., 1998). Segundo Santos et al. (2006), acredita-se que a maior interferência desses compostos ocorre quando eles agem sobre a biossíntese de aminoácidos ou rotas metabólicas comuns entre microrganismos e plantas.

A sensibilidade do *Bradyrhizobium spp.* ao glyphosate é influenciada pela concentração do herbicida e pela estirpe da bactéria (KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004). Em alguns países, constatou-se que o glyphosate provocou intoxicação em estirpes de rizóbios ou prejudicou a nodulação de soja (MALLIK; TESFAI, 1985; MOORMAN et al., 1992; HERNANDEZ et al., 1999; KING et al., 2001; SANTOS et al., 2004; MALTY et al., 2006). Moorman et al. (1992) aplicaram doses de 0,5 mM de glyphosate em *B. japonicum* e encontraram inibição diferencial de crescimento entre as estirpes testadas e completa inibição de todas elas quando expostas à dose de 5 mM. Santos et al. (2004) testaram as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019 e SEMIA 587), em condições de laboratório com dose de 0,26 mM do equivalente ácido de glyphosate, e constataram diferenças de crescimento entre as estirpes de rizóbios e formulações utilizadas no experimento. A estirpe menos tolerante à maioria das formulações testadas foi a SEMIA 587 e a mais sensível ao glyphosate-padrão, sem adição de sais ou de outros aditivos, foi a estirpe SEMIA 5019. Maltby et al. (2006) também demonstraram efeito inibitório do glyphosate ao crescimento de *Bradyrhizobium spp.* em meio de cultura, e esse efeito foi crescente com o aumento das concentrações aplicadas, tendo também variado em razão das estirpes avaliadas. Foi constatado que concentrações iguais a 0,21 mM de glyphosate inibem 50% do crescimento (DI_{50}) da estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* BR 86 e concentrações iguais a 0,45 mM inibem 100% do crescimento de todas as estirpes de rizóbios testadas.

King et al. (2001) encontraram diferença de resultados entre as cultivares RR tratadas com glyphosate, e o efeito inibitório da nodulação variou em razão das cultivares testadas, o que sugere que há variabilidade na sensibilidade em função do material genético avaliado.

Trabalhos anteriores demonstram que em concentrações extremamente baixas (menores que 0,1 mM), o glyphosate pode ser benéfico ao desenvolvimento de certas estirpes de rizóbios, demonstrando resposta quadrática negativa na análise de regressão em relação à dose aplicada (EBERBACH; DOUGLAS, 1989). Maly et al. (2006) demonstraram que doses da ordem de 0,089 mM de Roundup (360 g L⁻¹, do equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina – glyphosate) proporcionaram maior desenvolvimento dos rizóbios da estirpe BR 86 em relação à testemunha sem herbicida, porém estas concentrações são menores do que as encontradas nas raízes e nódulos de plantas tratadas com doses comerciais de glyphosate, criando portanto, falsa idéia de que o glyphosate possa estimular a nodulação na planta em condições normais de cultivo. Em trabalho desenvolvido por Honegger et al. (1986), observou-se que com aplicações de glyphosate de apenas 0,5 kg EA ha⁻¹ foram encontradas concentrações acima de 0,3 mM em tecidos do sistema radicular de plantas suscetíveis. Doses maiores ou aplicações repetidas podem resultar em concentrações mais elevadas, especialmente em fortes drenos de metabólitos como é o caso dos nódulos das raízes de soja quando comparados com o sistema radicular das mesmas (MCWHORTER et al., 1980). Isto sugere a possibilidade de serem encontradas condições de grande potencial inibitório do sistema radicular e principalmente dos nódulos radiculares das plantas de soja tratadas com glyphosate por ocasião do manejo de plantas daninhas presentes na cultura.

Liu et al. (1991) também observaram efeito inibitório do glyphosate em meio de cultura, para a estirpe RM1021 de *Rhizobium meliloti*, em concentrações maiores que 1 mM. Hernandez et al. (1999) observaram inibição de crescimento que variou de 17 a 53% entre as três estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* testadas sob a concentração de 0,03 mM de glyphosate, cuja concentração é muito inferior às encontradas em raízes, nódulos e outros drenos (HONEGGER et al., 1986).

Algumas hipóteses que podem explicar o efeito supressivo sobre a produtividade de grãos em cultivares com genes inseridos provenientes de outro organismo são enumeradas por Elmore et al. (2001a): (1) processo de inserção do gene que confere a resistência ao glyphosate, (2) diferenciais genéticos entre cultivares, (3) glyphosate (efeito do herbicida) e (4) efeitos

relacionados ao seu metabolismo na planta, acarretando sub-mecanismos de ação causados por subprodutos, como o ácido aminometilfosfônico (AMPA), conhecida fitotoxina (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2004). Esses fatores podem causar efeito direto do glyphosate sobre as bactérias simbiotes, tais como: inibição de crescimento e redução da biomassa dos nódulos e diminuição do conteúdo de clorofila e leghemoglobina na planta (REDDY et al., 2000). Redução de produtividade de grãos da ordem de 5% em cultivares RR foi constatada em trabalho desenvolvido por Elmore et al. (2001b), quando compararam linhagens irmãs com e sem inserção do gene RR. Também têm sido observados efeitos secundários, como redução do conteúdo de clorofila e crescimento da planta (KRAUSZ; YOUNG, 2001; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004), provavelmente em virtude do efeito tóxico do metabólito AMPA proveniente da degradação do herbicida.

Em trabalho desenvolvido por Reddy et al. (2004), constatou-se que o AMPA não afeta os níveis de chiquimato, tanto em soja RR quanto em soja convencional, mostrando que seu mecanismo de ação difere do glyphosate. A fitotoxicidade do AMPA para a soja fica evidente em virtude do efeito de redução do conteúdo de clorofila e da matéria seca da parte aérea, constatados por meio de aplicações desta fitotoxina em soja RR em doses que variam de 0 a 8 kg i.a. ha⁻¹. Tais aplicações resultaram na redução do conteúdo de clorofila em até 66% e de matéria seca da parte aérea em até 39%.

Assim como o glyphosate, outros herbicidas pré e pós-emergentes podem afetar a nodulação de leguminosas. Wichert e Talbert (1993) observaram que o fluazifop-p-butil, dois dias após a sua aplicação, já estava presente nas raízes tanto na forma ativa quanto metabolizado. Santos et al. (2006) estudaram os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e a mistura deles sobre duas estirpes de *Rhizobium tropici* e constataram que a mistura comercial entre os dois herbicidas causou maior inibição de crescimento das colônias de bactérias de uma das duas estirpes testadas. Quando o fluazifop-p-butil foi adicionado em diferentes concentrações ao meio de cultura, as estirpes avaliadas não apresentaram sensibilidade diferencial em relação ao crescimento. Mesmo na maior concentração testada (0,29 mM), o número de colônias formadas foi semelhante ao observado na testemunha. Entretanto, com o aumento da concentração do fomesafen, isolado ou em mistura com

fluazifop-p-butil, observou-se inibição do crescimento das colônias de bactérias ao longo do período de avaliação. Para o fomesafen isolado, as reduções foram menores, porém mais expressivas para uma das estirpes em relação à outra. Procópio et al. (2004) observaram que os herbicidas imazethapyr e fomesafen, aplicados em meio YM para o crescimento de *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019), reduziram em mais de 40% o crescimento dessa estirpe.

Apesar dos efeitos nocivos do fomesafen às bactérias quando em contato direto, esse herbicida tem pouca ou nenhuma translocação na planta (OLIVEIRA JR., 2001), uma vez que não se move pelo floema (VIDAL, 2002). Desta forma, espera-se que não deve atingir os nódulos na forma ativa. Porém, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conta disso, entrar em contato com o sistema radicular e conseqüentemente com os nódulos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos herbicidas fluazifop, fomesafen e glyphosate sobre a nodulação e acúmulo de biomassa em duas cultivares de soja RR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá no município de Maringá, que se situa na região noroeste do Estado do Paraná, a 23°25'31" de latitude sul, 51°56'19" de longitude oeste de Greenwich e a 542m de altitude, segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CW'a, mesotérmico úmido, com chuvas de verão e outono, e verão quente. O período de tempo compreendido entre o início e o fim do experimento foi de 10 de dezembro de 2005 a 08 de março de 2006. Foram utilizadas duas variedades de soja transgênica resistente ao glyphosate (RR), provenientes da Embrapa Soja em Londrina: BRS 245 RR e BRS 247 RR.

A cultivar BRS 245 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação semi-precoce, com ciclo total de 123 a 143 dias e é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É originada do cruzamento das linhagens BRS 133 e E96-246. A cultivar BRS 247 RR tem hábito de crescimento determinado, grupo de maturação médio, com ciclo total de 124 a 145 dias, é recomendada para plantio nos Estados do PR, SP e SC. É proveniente do cruzamento das linhagens BRS 134, Embrapa 59 e E96-246.

Dez sementes de cada variedade foram semeadas a 3 cm de profundidade em vasos de cinco dm³. Os vasos foram preenchidos com solo de textura franco argilo arenosa no horizonte A de onde foi coletado, após peneiramento (10 mesh). A análise química e a análise granulométrica são mostradas na Tabela 1. A semeadura foi efetuada com sementes tratadas com [Carbendazim+Tiram] + Imidacloprid nas doses de [30+70 g i.a.] + 60 g i.a. para cada 100 kg de sementes e posteriormente inoculadas na dose de 400 g p.c. por 100 kg de sementes.

Como inoculante, foi utilizado Rhizofix, formulação turfosa, produzido com as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 e *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na concentração de 3x10⁹ rizóbios por grama. Após a semeadura, a superfície do solo foi coberta com palha de aveia picada, com o equivalente a 5000 kg ha⁻¹. Quando as

plantas atingiram o estágio V1 foi feito um raleamento, mantendo-se duas plantas por vaso.

Tabela 1 – Resultado das análises* química e granulométrica do solo utilizado no experimento (camada de 0-20 cm de profundidade). Maringá-PR, 2006.

pH		Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C
CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³			g dm ⁻³	
5,2	5,8	0,0	3,68	3,91	1,95	0,40	6,26	9,94	3,0	6,97
Areia Grossa		Areia fina			Silte			Argila		
g kg ⁻¹										
370		320			80			230		

* Realizadas pelo Laboratório de Solos – UEM – Maringá - PR.

O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com sete repetições. Os tratamentos resultaram do arranjo fatorial entre as duas variedades de soja RR e seis modalidades de aplicação (MA) de herbicidas. Os níveis das MA com herbicida foram: zero (testemunha sem herbicida); aplicação seqüencial de fomesafen: 0,125/0,125 kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen + fluazifop-p-butil]: 0,125/[0,125+0,125] kg i.a. ha⁻¹ (12 e 24 DAE); aplicação única de fluazifop-p-butil: 0,125 kg i.a. ha⁻¹ (20 DAE); aplicação única de glyphosate: 0,720 kg EA ha⁻¹ (20 DAE) e aplicação seqüencial de glyphosate: 0,540/0,360 kg EA ha⁻¹ (12/24 DAE).

As doses dos herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butil estão em kg de ingrediente ativo por hectare e as doses de glyphosate estão em kg de equivalente ácido de N-(fosfonometil) glicina – glyphosate por hectare. Foi adicionado Energic à calda de pulverização na concentração de 0,2% (v/v) nas aplicações com os herbicidas fomesafen e fluazifop-p-butil, de acordo com a recomendação do fabricante. Os dados referentes aos herbicidas, doses, épocas de aplicação e estádios de desenvolvimento da soja (FEHR; CAVINESS, 1971) são mostradas na Tabela 2.

As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçadas a 50 cm entre si, posicionada na

altura de 50 cm da superfície do solo e volume relativo de calda de 200 L ha⁻¹. Por ocasião da aplicação de 12 DAE, a temperatura estava a 25°C, umidade relativa do ar (U.R.%) em 72%, solo úmido, velocidade do vento de 5 km⁻¹ e céu aberto sem nebulosidade, para aplicação de 20 DAE a temperatura era de 21°C, U.R.% = 81%, solo úmido, velocidade do vento de 1 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas; para aplicação de 24 DAE a temperatura era de 28°C, U.R.% = 70%, solo úmido, velocidade do vento de 8 km h⁻¹ e céu com nuvens esparsas. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida.

Tabela 2 – Modalidades de aplicação, doses, épocas de aplicação sobre as duas variedades de soja RR e estádios de desenvolvimento da soja.

MA ^{1/} /Herbicida	Dose ^{2/}	Época de aplicação	Estádio da Soja
Testemunha	-	-	-
Seqüencial de Fomesafen ^{3/}	0,125/0,125	12/24 DAE	V3/V5
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil] ^{4/}	0,125/[0,125+0,125]	12/24 DAE	V3/V5
Dose Única de Fluazifop-p-butil ^{5/}	0,125	20 DAE	V4
Dose Única de Glyphosate ^{6/}	0,720	20 DAE	V4
Seqüencial de Glyphosate ^{6/}	0,540/0,360	12/24 DAE	V3/V5

^{1/} MA: Modalidade de aplicação

^{2/} Doses de Fomesafen e Fluazifop-p-butil em kg i.a. ha⁻¹/Doses de Glyphosate em kg EA ha⁻¹

^{3/} Produto comercial Flex

^{4/} Produto comercial Fusiflex

^{5/} Produto comercial Fusilade

^{6/} Produto comercial Roundup Transorb

Os vasos foram irrigados diariamente de forma a manter o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Foram avaliados altura e número de trifólios completamente expandidos das plantas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) (dados não apresentados).

Ao atingirem o estágio R3, as plantas de soja foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar a 60°C até peso constante, quando a massa da matéria seca foi determinada. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, foi feito o destaque e a contagem do número de nódulos. Da mesma forma, foi feita a secagem das raízes e dos nódulos para posterior determinação da matéria seca dos mesmos. Foi avaliada matéria seca de parte aérea, do sistema radicular, do total de nódulos acumulados e número de nódulos por vaso.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk com o objetivo de avaliar a variância e a normalidade dos mesmos. Os dados foram transformados para porcentagem em relação à testemunha a fim de que se obtivesse homocedasticidade e normalidade dos erros. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo SISVAR (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do arranjo fatorial, foram analisados os efeitos isolados de modalidades de aplicação dos herbicidas e os desdobramentos da interação entre as modalidades de aplicação e as cultivares.

Os resultados do efeito isolado das modalidades de aplicação dos herbicidas mostraram influência sobre as variáveis-resposta matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca dos nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN), os quais são mostrados na Tabela 3. A variável MSSR foi afetada negativamente pelos tratamentos com dose única de fluazifop e glyphosate apresentando reduções de 14,55 e 9,94%, respectivamente, para esses tratamentos.

Tabela 3 – Análise dos efeitos isolados das modalidades de aplicação sobre produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN).

Modalidade de Aplicação/Herbicida	MSSR	MSPA	MSNT	NN
Testemunha	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
Seqüencial de Fomesafen	95,37 a	95,84 a	90,21 a	87,09 b
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,48 a	94,99 a	88,92 a	82,54 b
Dose Única de Fluazifop-p-butil	85,45 b	93,63 a	72,11 b	71,78 b
Dose Única de Glyphosate	90,06 b	89,66 a	76,15 b	72,88 b
Seqüencial de Glyphosate	93,94 a	95,86 a	87,77 a	83,92 b

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

A aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop] não reduziu significativamente a MSSR, ao passo que a dose única de fluazifop reduziu esta variável. Esperava-se que o efeito de redução causado pelo fluazifop no tratamento com aplicação única se repetisse no tratamento com aplicação

seqüencial junto com fomesafen, o que não aconteceu. Uma possibilidade para isso é que as formulações dos herbicidas podem influenciar nos efeitos causados pelos mesmos. Malkones (2000) inferiu que os aditivos presentes na formulação dos agroquímicos podem afetar os microrganismos e, em certos casos, até modificar o efeito dos agroquímicos. Segundo Kishinevsky et al. (1988), é possível que solventes, surfatantes e agentes molhantes presentes nas formulações comerciais de herbicidas contribuam para os efeitos inibitórios desses produtos no crescimento de estirpes de rizóbios. Além disso, a última aplicação seqüencial de [fomesafen+ fluazifop] foi realizada quatro dias mais tarde do que a aplicação de fluazifop em dose única, o que pode ter levado ao incremento na tolerância ou na capacidade de metabolização das plantas.

Já, o fato da aplicação seqüencial de glyphosate não ter causado redução significativa na MSSR pode estar associado tanto às épocas de aplicação quanto às doses de glyphosate, como encontrado por Reddy e Zablutowicz (2003) em trabalho realizado com glyphosate, onde as épocas de aplicação influenciaram nas variáveis estudadas. A variável matéria seca da parte aérea (MSPA) não foi influenciada significativamente por nenhuma das modalidades de aplicação com herbicidas. Este fato demonstra a esperada seletividade dos herbicidas em relação à planta, porém isto não os isenta dos efeitos causados nas outras variáveis.

Os mesmos dois tratamentos que causaram redução na MSSR também diminuíram a MSNT. Essa redução foi de 27,89 e 23,85% para fluazifop e glyphosate, respectivamente. Da mesma forma, as aplicações seqüenciais que contêm esses dois ingredientes ativos não causaram redução nessa variável. A hipótese levantada para a MSSR é igualmente aplicável para explicar os resultados encontrados para esta MSNT.

O número de nódulos acumulados (NN) foi reduzido em todos os tratamentos com herbicidas em relação à testemunha sem aplicação. As reduções variaram entre 12,81 e 28,22% para fomesafen em dose única e fluazifop em dose única, respectivamente. A resposta desta variável aos tratamentos diferiu das respostas encontradas para as outras duas variáveis afetadas significativamente.

Herbicidas como o fluazifop e o glyphosate possuem ação sistêmica nas plantas, isto é, quando aplicados à parte aérea das mesmas podem se

translocar até as raízes. Tais herbicidas e seus metabólitos podem, portanto, entrar em contato direto com os simbiontes da raiz. Embora não haja relatos sobre a toxicidade de fluazifop em relação a esses organismos, inúmeros autores (KAPUSTA; ROUWENHORST, 1973; ALAGAVADI; REDDY, 1986; KISHINEVSKY et al., 1988; DELANNAY et al., 1995; REDDY et al., 2004) descreveram o efeito tóxico sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio, o que pode ter sido a causa da redução do número de nódulos nos tratamentos que continham esses herbicidas. O fomesafen é considerado um herbicida de contato (OLIVEIRA JR., 2001; VIDAL, 2002), sendo de pouca ou nenhuma mobilidade. No entanto, mesmo não havendo translocação significativa deste herbicida para o sistema radicular, é possível que pequenas quantidades de fomesafen possam atingir o solo e, por conseqüência, entrar em contato com o sistema radicular ou diretamente com os nódulos. Esta possibilidade é reforçada pelo fato de que a toxicidade do fomesafen para espécies de rizóbios já foi demonstrada por testes *in vitro* (SANTOS et al., 2006).

O fato de ter havido redução no número de nódulos e não ter ocorrido o mesmo para MSNT no tratamento com glyphosate em aplicação seqüencial explica-se pela época de aplicação do produto. De forma que a aplicação de 0,54 kg EA ha⁻¹ de glyphosate aos 12 DAE reduziu a quantidade de nódulos formados nesta primeira etapa da nodulação, ao passo que a segunda aplicação de glyphosate foi menos nociva à nodulação, já que a dose foi menor (0,36 kg EA ha⁻¹), permitindo desta forma que a planta compensasse a quantidade de nódulos não-formados na primeira etapa com nódulos de maior massa individual nessa segunda etapa de formação.

Ao analisar o desdobramento da interação entre as cultivares e modalidades de aplicação de herbicidas (Tabela 4), pode-se observar fatos específicos de relevância.

A única diferença significativa entre as cultivares foi encontrada para matéria seca do sistema radicular na aplicação de dose única de fluazifop, para a qual a cultivar BRS 245 RR demonstrou maior tolerância em relação à cultivar BRS 247 RR.

A cultivar BRS 247 RR teve a matéria seca do sistema radicular reduzida apenas pela aplicação em dose única de fluazifop. A matéria seca dos nódulos acumulados foi reduzida pelas duas aplicações em dose única, tanto

de fluazifop, quanto de glyphosate. O número de nódulos foi reduzido pelas duas aplicações que continham fluazifop, além da aplicação em dose única de glyphosate. A cultivar BRS 245 RR não teve redução em nenhuma das variáveis analisadas por nenhuma das modalidades de aplicação.

Tabela 4 – Produção relativa de matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos totais acumulados (MSNT) e número de nódulos acumulados (NN) em duas cultivares de soja RR em função de seis modalidades de aplicação com herbicidas.

Modalidade de aplicação/ Herbicida	MSSR		MSPA		MSNT		NN	
	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR	BRS247 RR	BRS245 RR
	%							
Testemunha	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA	100,00aA
Seqüencial de Fomesafen	91,29aA	99,44aA	98,27aA	93,41aA	86,88aA	93,55aA	86,49aA	87,69aA
Seqüencial de Fomesafen/[Fomesafen + Fluazifop-p-butil]	92,94aA	92,01aA	95,15aA	94,83aA	88,44aA	89,40aA	80,55bA	84,53aA
Dose Única de Fluazifop-p-butil	80,44bB	90,46aA	93,10aA	94,17aA	73,71bA	70,51aA	75,28bA	68,27aA
Dose Única de Glyphosate	89,57aA	90,55aA	88,15aA	91,16aA	70,96bA	81,34aA	65,04bA	80,72aA
Seqüencial de Glyphosate	91,62aA	96,25aA	96,19aA	95,52aA	88,32aA	87,21aA	87,53aA	80,30aA

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas linhas (para uma mesma variável-resposta) não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de significância

Os resultados demonstram que existe diferença entre as cultivares em relação às aplicações. A cultivar BRS 247 RR é menos tolerante aos tratamentos aqui apresentados do que a cultivar BRS 245 RR. A modalidade de aplicação e a dose de ingrediente ativo são importantes fatores no efeito causado pelos herbicidas sobre a nodulação e desenvolvimento da planta. A variável número de nódulos foi a mais afetada pelos tratamentos. A variável matéria seca da parte aérea não foi reduzida por nenhum dos tratamentos em nenhuma das cultivares.

REFERÊNCIAS

ALAGAVADI, A.R.; REDDY, T.K.R. Effect of trifluralin on *Rhizobium* and its nodulation on groundnut. **Pesticides**, v. 20, p. 27-30, 1986.

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

DELANNAY,X.; BAUMAN,T.T.; BEIGHEY,D.H.; BUETTNER,M.J.; COBLE,H.D.; DEFELICE,M.S.; DERTING,C.W.; DIEDRICK,T.J.; GRIFFIN,J.L.; HAGOOD,E.S.; HANCOCK,F.G.; HART,S.E.; LAVALLEE,B.J.; LOUX,M.M.; LUESCHEN,W.E.; MATSON,K.W.; MOOTS,C.K.; MURDOCK,E.; NICKELL,A.D.; OWEN,D.K.; PASCHAL,E.H.; PROCHASKA,L.M.; RAYMOND,P.J.; REYNOLDS,D.B.; RHODES,W.K.; ROETH,F.W.; SPRANKLE,P.L.; TAROCHIONE,L.J.; TINIUS, C.N.; WALKER,R.H.; WAX,L.M.; WEIGELT,H.D.; PADGETTE,S.R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, v. 35, p. 1461-1467, 1995.

DUKE, S.O. Glyphosate. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1988. p.1-70.

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

EBERBACH, P.L.; DOUGLAS, L.A. Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. **Plant and Soil**, v. 119, p. 15-23, 1989.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 404-407, 2001a.

ELMORE, R.W.; ROETH, F.W.; NELSON, L.A.; SHAPIRO, C.A.; KLEIN, R.N.; KNEZEVIC, S.Z.; MARTIN, A. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 408-412, 2001b.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J.I.; BACERRIL, J.M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 2920-2925, 1999.

HONEGGER, J.L.; BROOKS, J.M.; ANDERSON, E.J.; PORTER, C.A.. Glyphosate transport in plants. In: CRONSHAW, J. (Ed.) **Phloem transport**. New York: Liss, 1986. p.609-618.

HUNGRIA, M; CAMPOS, R.J.; VARGAS, M.A.T.; CATTELAN, A.J.; MENDES, I.C. Microbiologia do solo e produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa, 1999. p.126-137.

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

KAPUSTA, G.; ROUWENHORST, D.L. Interaction of selected pesticides and *Rhizobium japonicum* in pure culture and under field conditions. **Agronomy Journal**, v. 65, p. 112-115, 1973.

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

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, v. 28, p. 291-196, 1988.

KRAUSZ, R.F.; YOUNG, B.G. Response of double-crop glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to broadleaf herbicides. **Weed Technology**, v. 15, p. 300-305, 2001.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MALLIK, M.A.B.; TESFAI, K. Pesticidal effect of soybean-rhizobia symbiosis. **Plant Soil**, v. 85, p. 33-41, 1985.

MALKONES, H.P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities - a review. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 8, n. 5, p. 781-789, 2000.

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

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

McWHORTER, C.G.; JORDAN, T.N.; WILLS, G.D. Translocation of 14C-glyphosate in soybean (*Glycine max*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, v. 28, p. 113-118, 1980.

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

OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.207-260.

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

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS J.B.; JACQUES, R.J.S.; KASUYA, M.C.M.; SILVA, A.A.; WERLANG, R.C. Crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium* sob influência dos herbicidas glyphosate potássico, fomesafen, imazethapyr e carfentrazone-ethyl. **Revista Ceres**, v. 51, n. 294, p. 179-188, 2004.

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**, v. 2, p. 37-52, 2000.

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

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

ROYUELA, M.; GONZALEZ, A.; ARRESE-IGOR, C.; APARICIO-TEJO, P.M.; GONZALEZ-MURUA, C. Imazethapyr inhibition of acetolactate synthase in *Rhizobium* and its symbiosis with pea. **Pesticide Science**, v. 52, p. 372-380, 1998.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VIDAL, R.A. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: **Ação dos herbicidas: absorção, translocação, e metabolização**. Porto Alegre: Evangraf, 2002. p.60-70.

WICHERT, R.A.; TALBERT, R.E. Soybean [*Glycine max* (L.)] response to lactofen. **Weed Science**, v. 41, p. 23-27, 1993.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

CONCLUSÕES

- O herbicida glyphosate causou reduções de matéria seca da parte aérea, matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- O herbicida fluazifop e a mistura [fluazifop+fomesafen] causaram redução de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e número de nódulos em cultivares de soja RR.
- As variáveis-resposta analisadas são dependentes de diferentes fatores presentes neste trabalho.
- As cultivares têm reações diferenciadas entre si para as diferentes modalidades de aplicação utilizadas neste trabalho.
- As modalidades de aplicação causam diferentes efeitos dentro de uma mesma cultivar de soja.
- Mesmo que não haja danos visuais na parte aérea das plantas pode ocorrer perda de matéria seca do sistema radicular, matéria seca de nódulos acumulados e redução no número de nódulos.
- Cultivares de ciclo precoce apresentaram maior número de nódulos.
- Cultivares BRS apresentaram melhores resultados de nodulação.

APÊNDICE

Tabela 1A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 1.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	19	1000,09**	307,96 ^{ns}	1315,60**	1832,28**
Modalidade de Aplicação (MA)	4	8502,58**	4696,36**	16773,11**	24227,46**
Cv x MA	76	214,33 ^{ns}	100,62 ^{ns}	293,45 ^{ns}	391,66 ^{ns}
Cv/Test	19	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/SI	19	386,11 ^{ns}	226,46 ^{ns}	271,66 ^{ns}	338,51 ^{ns}
Cv/DUI	19	326,30 ^{ns}	210,12 ^{ns}	588,82 ^{ns}	646,38**
Cv/SII	19	620,91**	108,64 ^{ns}	657,34 ^{ns}	941,60**
Cv/DUII	19	524,09**	165,20 ^{ns}	971,58**	1472,43**
MA/BRS245 RR	4	997,46**	247,44 ^{ns}	634,42 ^{ns}	538,28 ^{ns}
MA/MSOY8151 RR	4	326,09 ^{ns}	197,16 ^{ns}	405,72 ^{ns}	544,22 ^{ns}
MA/AL83TROPICAL RR	4	406,97 ^{ns}	515,72**	903,62 ^{ns}	1524,08**
MA/CD214 RR	4	141,65 ^{ns}	186,27 ^{ns}	554,78 ^{ns}	1077,35**
MA/BRS242 RR	4	502,02 ^{ns}	197,40 ^{ns}	1000,76 ^{ns}	1082,09**
MA/BRS244 RR	4	483,78 ^{ns}	358,82 ^{ns}	697,89 ^{ns}	905,25**
MA/CD219 RR	4	499,26 ^{ns}	367,14 ^{ns}	1158,01**	1631,73**
MA/MSOY8008 RR	4	659,32**	639,89**	1450,88**	2191,80**
MA/ANTA RR	4	926,53**	155,04 ^{ns}	1550,50**	1851,00**
MA/BRS243 RR	4	143,38 ^{ns}	90,17 ^{ns}	344,01 ^{ns}	638,03 ^{ns}
MA/MSOY6001 RR	4	1128,68**	471,49 ^{ns}	1778,37**	1854,63**
MA/CRISTALINA RR	4	650,96**	510,74**	1154,12**	1154,51**
MA/BRS247 RR	4	1703,50**	485,87**	737,11 ^{ns}	1210,00**
MA/MSOY9000 RR	4	148,17 ^{ns}	211,22 ^{ns}	438,05 ^{ns}	934,10 ^{ns}
MA/CD213 RR	4	1352,89**	461,10**	3897,22**	4964,87**
MA/MSOY8100 RR	4	966,61**	296,45 ^{ns}	1411,96**	2288,76**
MA/VALIOSA RR	4	532,58 ^{ns}	489,76**	1221,49**	1599,76**
MA/MSOY8000 RR	4	460,80 ^{ns}	348,46 ^{ns}	1276,54**	2114,36**
MA/BRS246 RR	4	150,35 ^{ns}	131,16 ^{ns}	588,90 ^{ns}	944,08 ^{ns}
MA/NI	4	393,90 ^{ns}	246,74 ^{ns}	1144,26**	2620,12**
Blocos	6	1535,81	2681,93	11535,51	37445,05
Resíduo	594	257,95	200,86	445,61	431,95
Total	699				
CV(%)		18,56	15,76	26,19	27,12
Média Geral		86,53	89,95	80,59	76,62

**Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2A – Resumo das análises de variância relativa à matéria seca do sistema radicular (MSSR), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de nódulos acumulados (MSNT) e número de nódulos NN do Experimento 2.

FV	GL	Quadrados Médios (QM)			
		MSSR	MSPA	MSNT	NN
Cultivar (Cv)	1	304,91**	1,80 ^{ns}	109,30 ^{ns}	25,42 ^{ns}
Modalidade de Aplicação (MA)	5	339,56**	159,27 ^{ns}	1442,56**	1498,30**
Cv x MA	5	72,29 ^{ns}	23,72 ^{ns}	93,91 ^{ns}	250,13 ^{ns}
Cv/1	1	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Cv/2	1	232,96 ^{ns}	82,66 ^{ns}	155,77 ^{ns}	4,99 ^{ns}
Cv/3	1	3,03 ^{ns}	0,35 ^{ns}	3,25 ^{ns}	55,44 ^{ns}
Cv/4	1	352,10**	4,05 ^{ns}	36,03 ^{ns}	172,13 ^{ns}
Cv/5	1	3,35 ^{ns}	31,77 ^{ns}	376,48 ^{ns}	860,20 ^{ns}
Cv/6	1	74,39 ^{ns}	1,56 ^{ns}	4,31 ^{ns}	183,31 ^{ns}
MA/BRS245 RR	5	133,43 ^{ns}	60,36 ^{ns}	730,53 ^{ns}	756,98 ^{ns}
MA/BRS247 RR	5	278,42**	122,63 ^{ns}	805,33**	991,45**
Blocos	6	105,13	190,61	455,60	559,32
Resíduo	66	70,96	67,19	293,31	338,84
Total	83				
CV(%)		9,07	8,63	19,95	22,17
Média Geral		92,88	94,99	85,86	83,03

1= Testemunha sem aplicação

2= Aplicação seqüencial de fomesafen/fomesafen

3= Aplicação seqüencial de fomesafen/[fomesafen+fluazifop]

4= Aplicação em dose única de fluazifop

5= Aplicação em dose única de glyphosate

6= Aplicação seqüencial de glyphosate/glyphosate

** Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)