

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**ABSORÇÃO E ACÚMULO DE MANGANÊS EM SOJA RR SOB EFEITO
DO GLYPHOSATE**

GABRIEL JOSÉ MASSONI DE ANDRADE

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia - Agricultura

BOTUCATU - SP
Abril de 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**ABSORÇÃO E ACÚMULO DE MANGANÊS EM SOJA RR SOB EFEITO
DO GLYPHOSATE**

GABRIEL JOSÉ MASSONI DE ANDRADE

Orientador Prof. Dr. Ciro Antonio Rosolem

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia - Agricultura

BOTUCATU - SP
Abril de 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

A553a Andrade, Gabriel José Massoni de, 1985-
Absorção e acúmulo de manganês em soja RR sob efeito do glyphosate / Gabriel José Massoni de Andrade. - Botucatu : [s.n.], 2010.
ix, 57 f. : tabs., grafs., fots. color

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2010
Orientador: Ciro Antonio Rosolem
Inclui bibliografia.

1. *Glycine Max* L.. 2. Cinética de absorção. 3. Micronutrientes. 4. Nutrição mineral de plantas. I. Rosolem, Ciro Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

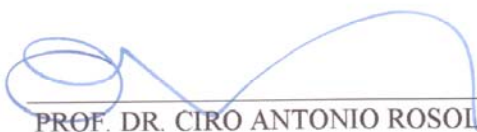
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ABSORÇÃO E ACÚMULO DE MANGANÊS EM SOJA RR SOB EFEITO DO GLYPHOSATE

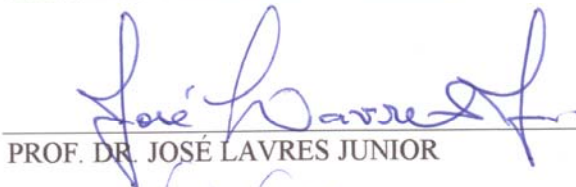
ALUNO: GABRIEL JOSÉ MASSONI DE ANDRADE

ORIENTADOR: PROF. DR. CIRO ANTONIO ROSOLEM

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. CIRO ANTONIO ROSOLEM



PROF. DR. JOSÉ LAVRES JUNIOR



PROF. DR. MARCELO ROCHA CORRÊA

Data da Realização: 12 de abril de 2010.

DEDICO

*Àqueles que são mais que simplesmente um grupo de pessoas
e sim, fazem parte do sagrado; a minha FAMÍLIA.*

*Aos meus preciosíssimos pais, Amadeu e Ana Maria, os quais com muito
amor, carinho e ensinamentos estiveram ao meu lado,
e nunca mediram esforços para a realização deste objetivo.
Aos meus amados irmãos, Gisele Helena e Guilherme Augusto, que, com
os auxílios, incentivos e amor, fizeram parte desta caminhada.*

*A Marisa, por todo companheirismo, amor e compreensão
A todos os meus familiares e amigos presentes no convívio,*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, amor incondicional, misericórdia e amparo em todos os momentos de minha vida;

A meus pais Amadeu Medeiros de Andrade e Ana Maria Massoni de Andrade pelo que sou;

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pela concessão da bolsa de estudos;

À Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela oportunidade;

Ao Prof. Dr. Ciro Antonio Rosolem pelos ensinamentos, orientação e ética profissional;

Aos Docentes dos Departamentos de Agricultura, Recursos Naturais, Botânica e Bioestatística por todos os ensinamentos, coleguismo e colaboração nesta pesquisa;

Ao professor Luiz Vitor Sacramento da Faculdade de Ciências Farmacêuticas –UNESP, Araraquara pelo auxílio, disponibilidade e seus ensinamentos;

Ao Dr. Leandro Vagno de Souza da Epamig (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais) pelo fornecimento das sementes de soja.

Aos Funcionários do Departamento de Agricultura, Lana, Vera, Valéria, Dorival, Cirinho, Célio, Valdomiro (Fio) e demais funcionários pela estrutura concedida e colaboração em vários momento dessa pesquisa;

Aos funcionários da biblioteca, Denise, Nilson, Janaina, Solange e demais funcionários pelos serviços prestados;

A Universidade Federal de Viçosa por ser berço do conhecimento;

Ao amigo Dr. Odilon Lemos de Mello Filho por ser um dos quais me iniciaram na pesquisa;

Aos amigos Everaldo, Eder, Felipe, Sidnei e Izaias pela convivência;

Ao estagiário Jhonatas (Tripa) por toda ajuda e muito trabalho;

Aos amigos do Grupo de Oração Divina Misericórdia;

Aos amigos e colegas de curso de Pós-Graduação da Agricultura e Horticultura;

Aos meus irmãos, cunhados, sobrinho e familiares pela alegria de vida e convivência;

A minha namorada, Marisa, que mesmo distante fisicamente participou constantemente de todas as alegrias e dificuldades durante esse tempo;

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1. RESUMO	1
2. SUMMARY	3
3. INTRODUÇÃO	5
4. REVISÃO DE LITERATURA	7
4.1. Soja RR no Brasil	7
4.2. O papel do Mn em plantas	8
4.3. Absorção e transporte de Mn	9
4.4. Glyphosate e Mn na soja	11
5. MATERIAL E MÉTODOS	16
5.1. Cultivares	16
5.2. Experimento 1: Acúmulo e distribuição de Mn na planta	17
5.2.1. Determinações	18
5.2.1.1. Análise química das plantas	18
5.2.1.2. Eficiência de absorção e relação copa/raiz	19
5.2.2. Delineamento experimental e análises estatísticas	19
5.3. Experimento 2: Cinética de absorção	19
5.3.1. Determinações	20
5.3.1.1. Análise química das plantas	20
5.3.1.2. Análise da solução de exaustão	20
5.3.1.3. Parâmetros cinéticos de absorção	21
5.3.2. Delineamento experimental e análise estatística	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6.1. Experimento 1: Acúmulo e distribuição de Mn na planta	22
6.1.1. Teores nas diferentes partes da planta	22
6.1.2. Massa de matéria seca (MMS)	29
6.1.3. Acúmulo de Mn	33
6.1.4. Eficiência de absorção e relação copa/raiz	35
6.1.5. Percentagem de acúmulo de Mn	38
6.2. Experimento 2. Cinética de absorção do Mn	41
6.2.1. Teores e acúmulo de Mn e massa de matéria seca (MMS)	41
6.2.2. Parâmetros cinéticos K_m , $V_{máx}$ e $C_{mín}$	44
7. CONCLUSÕES	48
8. REFERÊNCIAS LITERÁRIAS	49

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Concentração dos nutrientes utilizados no experimento.....	17
Tabela 2. Resumo da análise de variância para o teor de Mn nas folhas hastes e raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva.	22
Tabela 3. Resumo da análise de variância para massa de matéria seca (MMS) das folhas, hastes, raízes e total das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva.....	30
Tabela 4. Resumo da análise de variância para o acúmulo de Mn nas folhas, hastes, raízes e total das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva.	33
Tabela 5. Resumo da análise de variância para eficiência de absorção (E.A.) e relação copa/raiz das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva.	36
Tabela 6. Resumo da análise de variância para a percentagem de acúmulo de Mn nas folhas, hastes e raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva.....	38
Tabela 7. Resumo da análise de variância para o teor de Mn nas folhas hastes e raízes da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar.	42
Tabela 8. Resumo da análise de variância para o acúmulo de Mn nas folhas hastes, raízes e total da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar.	42
Tabela 9. Resumo da análise de variância para a massa de matéria seca (MMS) das folhas hastes, raízes e total da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar.....	42
Tabela 10. Resumo da análise de variância para os parâmetros cinéticos constante de Michaelis (K_m), Velocidade máxima de absorção de Mn ($V_{m\acute{a}x}$) e concentração mínima ($C_{m\acute{i}n}$) da cinética de absorção de Mn da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar.	45

Tabela 11. Valores médios dos parâmetros cinéticos K_m , Velocidade Máxima ($V_{máx}$) e concentração do C_{min} da cultivar Valiosa RR submetida a aplicações de glyphosate via foliar.	45
Tabela 12. Equações ajustadas para as curvas de absorção de Mn (concentração versus tempo) no cálculo dos parâmetros cinéticos da absorção por soja transgênica sob efeito de diferentes doses de glyphosate.	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Teor de Mn nas folhas das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.	24
Figura 2. A- Teor de Mn nas hastes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. B - Teor de Mn nas hastes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.....	25
Figura 3. Interação do teor radicular de Mn das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar, com os níveis de Mn na solução nutritiva.....	26
Figura 4. Sintomas de deficiência de Mn nas cultivares Conquista (A e B) e Valiosa RR (C e D) com 18 dias de cultivo no nível zero de Mn na solução de crescimento.....	28
Figura 5. Sintomas de deficiência de Mn nas cultivares Conquista (A) e Valiosa RR (B) com 25 dias de cultivo no nível zero de Mn na solução de crescimento.....	28
Figura 6. Massa de matéria seca (MMS) de raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar.....	31
Figura 7. Massa de matéria seca (MMS) das folhas, hastes, raízes e total nos diferentes níveis de Mn na solução nutritiva.....	33
Figura 8. Acúmulo de Mn nas folhas (A) e hastes (B) das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.....	34
Figura 9. Interação do acúmulo de Mn nas raízes (A) e do total na planta (B) das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar, com os níveis de Mn na solução nutritiva.....	35
Figura 10. Eficiência de absorção das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.	37
Figura 11. A - Relação copa/raiz das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. B - Relação copa/raiz das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.....	38

- Figura 12. A** – Percentagem de acúmulo de Mn nas folhas das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. **B** - Percentagem de acúmulo de Mn nas folhas das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.39
- Figura 13. A** – Percentagem de acúmulo de Mn nas raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. **B** - Percentagem de acúmulo de Mn nas raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva.....40
- Figura 14.** Interação da percentagem do Mn acumulado nas hastes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar, com os níveis de Mn na solução nutritiva.....41
- Figura 15.** Teores (A) e acúmulos (B) de Mn nas partes das plantas da cultivar Valiosa RR sob diferentes doses de glyphosate aplicado via foliar... ..43
- Figura 16.** Massa de matéria seca (MMS) das partes e total das plantas da cultivar Valiosa RR sob diferentes doses de glyphosate aplicado via foliar.44
- Figura 17.** Curva de depleção de Mn pela cultivar Valiosa RR sob diferentes doses de glyphosate aplicado via foliar em função do tempo de exposição das plantas a uma solução nutritiva contendo Mn na concentração de 0,25 mg L⁻¹46

1. RESUMO

Frente a dúvida sobre a nutrição da soja com manganês influenciada pelo glyphosate e a inclusão do gene de resistência, objetivou-se estudar o acúmulo e distribuição do nutriente na planta de soja geneticamente modificada sob efeito da aplicação de glyphosate, assim como a cinética de absorção do Mn pela soja transgênica sob ação do mesmo herbicida. Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação no Departamento de Produção Vegetal - Agricultura da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP-Botucatu. Experimento 1: Em delineamento de blocos completos ao acaso e em esquema fatorial 5 x 3, com quatro repetições, a absorção e o acúmulo de Mn foram avaliados em duas cultivares de soja quase isogênicas (Conquista e Valiosa RR), cultivadas em solução nutritiva. Foram empregados os seguintes níveis de Mn à solução nutritiva: 0; 0,085; 0,125; 0,250; 0,500 mg L⁻¹. Após 25 dias de cultivo as plantas de soja transgênica, destinadas ao estudo sob efeito do glyphosate, foram submetidas à aplicação do herbicida, formulado a base do sal de isopropilamina, via foliar, na dose de 720 g e.a. ha⁻¹. Todas as plantas de soja, convencional e transgênica, com e sem a adição do herbicida, foram coletadas na mesma data (15 dias após a aplicação do herbicida). Realizaram-se divisões das plantas em raízes, hastes e folhas, para a determinação da massa de matéria seca (MMS) e os teores de Mn. Experimento 2: O estudo da cinética de absorção do Mn pela cultivar Valiosa RR foi organizado em delineamento de blocos completos ao acaso, com sete repetições. As plantas foram submetidas ao glyphosate aos 26 dias de cultivo, o qual foi aplicado via foliar, com a mesma formulação do experimento anterior, nas doses de 0

(zero), 15 e 960 g e.a. ha⁻¹. Utilizando-se da técnica de exaustão do Mn na solução, após quatro dias da aplicação do herbicida foi realizado o estudo da cinética de absorção do Mn. Após o término do experimento de exaustão, as plantas foram coletadas e divididas em folhas, hastes e raízes para determinação da massa de matéria seca e os teores de Mn. Constatou-se que a transgenia para resistência ao glyphosate não afeta a nutrição mangânica na cultivar de soja Valiosa RR, bem como não interfere na produção de matéria seca da planta. Mesmo reduzindo a massa de matéria seca de raiz o glyphosate não interfere na absorção e no transporte de Mn na planta de soja geneticamente modificada. Além disso, as raízes afetadas são eficientes na absorção do Mn e suprem adequadamente as outras partes da planta. Na cinética de absorção do Mn os parâmetros cinéticos da cultivar Valiosa RR, K_m , $V_{máx.}$ e $C_{mín.}$ não são alterados pelo glyphosate aplicado via foliar.

Palavras chave: *Glycine Max* L., cinética de absorção, micronutrientes e nutrição mineral de plantas

ABSORPTION AND ACCUMULATION OF MANGANESE IN RR SOYBEAN UNDER EFFECT OF GLYPHOSATE. Botucatu, 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: GABRIEL JOSÉ MASSONI DE ANDRADE

Adviser: CIRO ANTONIO ROSOLEM

2. SUMMARY

Faced with questions about the nutrition of soybean with manganese influenced by glyphosate and the inclusion of the resistance gene, it was aimed to study the accumulation and partition of nutrient in soybean plant genetically modified under effect of glyphosate and the kinetics of Mn absorption by soybean GM under the action of the same herbicide. It was run two experiments in a greenhouse at the Department of Plant Production, Faculty of Agronomic Sciences, UNESP-Botucatu. Experiment 1: In a randomized complete block design and in a 5 x 3 factorial scheme, with four replications, the absorption and accumulation of Mn was evaluated in two cultivars of soybean near-isogenic (Conquista and Valiosa GR), that was grown in nutrient solution. The following Mn levels of the nutrient solution were utilized: 0, 0.085, 0.125, 0.250, 0.500 mg L⁻¹. After 25 days of GR soybean plants cultivation, the leaves of soybean were sprayed with glyphosate formulations on the basis of isopropylamine salt using 720 g a.e. ha⁻¹. All soybean plants, conventional, GR, with and without glyphosate, were collected on the same date (15 days after herbicide application). Then they were separated by roots, stems and leaves, for the determination of dry matter and Mn concentration. Experiment 2: The experiment was randomized using complete block design with seven replicates studying the kinetics of Mn uptake by GR Valiosa soybean cultivar under doses of glyphosate. After 26 days of soybean cultivation the glyphosate was applied with the same wording of the previous experiment, using doses of 0 (zero), 15 and 960 g a.e. ha⁻¹ doses. Using the technique of Mn exhaustion from the nutrient solution after four days of herbicide application, it was carried out a study of the kinetics of Mn absorption. Right after the end of the experiment of exhaustion, the plants were harvested and separated in leaves, stems and roots for determination of dry matter and Mn concentrations. It was found

that genetic modification does not affect the nutrition of Mn in growing GR Valiosa cultivar, and does not affect the dry matter production of the plants. Even though reducing the dry matter root, the glyphosate does not affect the absorption and transport of Mn in GR soybeans. Moreover, the affected roots are efficient in the Mn absorption and adequately supply the other parts of plants. Regarding the kinetic of Mn the parameters K_m , V_{max} and C_{min} are not affected by glyphosate applied to leaves.

Key words: *Glycine Max* L., absorption kinetics, micronutrients and plant nutrition

3. INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil ocupa o segundo lugar no ranking mundial de cultivo de plantas transgênicas, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Do total cultivado com transgênicos no país, a soja resistente ao herbicida glyphosate corresponde a aproximadamente 76% da área (ISAAA, 2009). Nessa soja, o glyphosate é aplicado em pós-emergência da cultura, absorvido e translocado nas plantas, promovendo eficiente controle das plantas daninhas nos estádios em que a competição seria extremamente negativa para a cultura (TUFFI SANTOS et al., 2007). Embora o glyphosate seja eficiente no controle de plantas daninhas, existem relatos de diferentes efeitos fisiológicos induzidos por esse herbicida (LYDON e DUKE, 1989; DEVINE et al., 1993).

O herbicida pode ser exsudado na rizosfera das plantas-alvo e ser, pelo menos em parte, absorvido pela planta não-alvo cultivada na mesma área (KREMER et al. 2005; NEUMANN et al., 2006; RODRIGUES et al., 1982), havendo a possibilidade de prejuízo no crescimento e produtividade. Ainda dentre os efeitos provocados pelo glyphosate em plantas não-alvo, tem sido relatada a diminuição na absorção e transporte do Mn (RÖMHELD et al., 2005), mesmo quando o herbicida entrou em contato com a planta por via foliar. Há alguns processos de interferência relatados e possivelmente um deles é a formação de complexo pouco solúvel e móvel entre o glyphosate e íons catiônicos (EKER et al., 2006) podendo influenciar os mecanismos de absorção. Além disso, a acumulação de glyphosate nas raízes pode resultar na formação de um complexo imóvel de Fe e Mn com o herbicida

limitando dessa maneira o transporte desses nutrientes (FENG, et al., 2003). Há relatos que as plantas de soja RR (Roundup Ready) são menos eficientes no acúmulo de Mn que as convencionais (GORDON, 2007). Entretanto, poucos trabalhos têm sido desenvolvidos usando-se plantas resistentes ao glyphosate, permanecendo a dúvida se estes efeitos ocorreriam nessas plantas.

O presente trabalho foi baseado nas seguintes hipóteses: A Interação do glyphosate acumulado nas plantas pode induzir a deficiência de manganês; cultivares de soja RR acumulariam menos Mn que as convencionais. Assim, objetivou-se estudar o acúmulo e distribuição do nutriente na planta de soja geneticamente modificada sob efeito da aplicação de glyphosate via foliar, bem como, a cinética de absorção do Mn pela soja transgênica sob ação do mesmo herbicida.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Soja RR no Brasil

A soja RR, desenvolvida pela Monsanto, entrou no Rio Grande do Sul em 1995 a partir do contrabando de sementes da Argentina (SEAGRI, sd.). O cultivo da soja resistente ao glyphosate foi legalmente autorizado em setembro de 2003, pela Medida Provisória (MP) nº 131. Esta MP regulamentou o primeiro cultivo de organismos geneticamente modificados em escala comercial no Brasil que no mesmo ano foi convertida na Lei nº 10.184, de 15 de dezembro de 2003. (SOJA TRANSGÊNICA NO BRASIL..., sd.; SEAGRI, sd.).

Após liberação oficial da soja transgênica, resistente ao herbicida glyphosate, em 2005 (Lei de Biossegurança. Lei nº 11.105, conhecida como “nova Lei da Biossegurança”, de 24 de março de 2005), ocorreram profundas mudanças nos sistemas de manejo de plantas daninhas nessa cultura, tendo em vista que vários produtos ou combinações destes estão sendo substituídos por um único ingrediente ativo: o glyphosate (GAZZIERO, 2005). Esse herbicida, por apresentar uma série de vantagens, como: ter amplo espectro de ação; ser de simples aplicação; não possuir efeito residual no solo; apresentar alta seletividade à soja; controlar espécies e biótipos tolerantes ou resistentes a outros mecanismos de ação; ser de baixo custo e mais eficiente que os demais herbicidas existentes no mercado mundial, representa um grande atrativo aos produtores (SILVA e SILVA, 2007).

O Brasil cultivou 21,4 milhões de hectares com culturas geneticamente modificadas (GM) no ano de 2009, ocupando o segundo lugar no ranking mundial de transgênicos, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (64 milhões de hectares). Dos 21,4 milhões de hectares de culturas GM cultivadas no Brasil em 2009, 16,2 milhões de hectares foram cultivados com soja tolerante a herbicida, ultrapassando os 14,2 milhões de hectares em 2008 (ISAAA, 2009). O índice de adoção bateu um recorde de 71% contra o de 65% em 2008, com uma estimativa de 150.000 agricultores tendo se beneficiado da soja RR. A região com maior participação no cultivo da soja GM é a Sul, com 75,4% seguido da região Sudeste com 45,7%, Centro-Oeste com 51,0 % e Nordeste com 32,7% (RALLY DA SAFRA , 2009).

4.2. O papel do Mn em plantas

O Mn é essencial na síntese de clorofila e sua função principal está relacionada a ativação de enzimas (DECHEN e NACHTIGALL, 2006). O Mn desempenha um papel importante nos processos redox, tais como no transporte de elétrons na fotossíntese e na desintoxicação de radicais livres de oxigênio. Poucas enzimas contêm Mn na sua estrutura, dentre elas tem-se a superóxido dismutase (Mn-SOD), que atua na neutralização de superóxidos (RAYCHAUDHURI, 2000), e, portanto, protegendo membranas e proteínas contra a oxidação. Um polipeptídeo do fotossistema II (FS II) da proteína envolvida na oxidação da molécula de água também contém Mn (MARSCHNER, 1995). O papel mais bem documentado e exclusivo do Mn em plantas verdes é aquele da reação de quebra da molécula da água e do sistema de evolução de O_2 na fotossíntese, que ocorre no lúmen do cloroplasto durante a fase fotoquímica do processo fotossintético, denominado reação de Hill (MARSCHNER, 1995).

Durante a oxidação da água os elétrons são liberados pela enzima que quebra a água, cuja enzima contém quatro íons de Mn, sendo esses elétrons transferidos para o FS II. No processo de fotólise, duas moléculas de água liberam uma molécula de O_2 e quatro H^+ com a doação simultânea de quatro elétrons (KIRKBY e RÖMHELD, 2007; MALAVOLTA, 2006). De acordo com Kirkby e Römheld (2007) o Mn atua diretamente na fotossíntese e indiretamente na formação de carboidratos, assim, deficiências leves de Mn afetam a fotossíntese e diminuem o nível de carboidratos solúveis na planta. Já a deficiência

mais severa de Mn ocasiona uma quebra na estrutura do cloroplasto que não pode ser revertida. Os cloroplastos são as mais sensíveis de todas as organelas celulares à deficiência de Mn, o que leva à desorganização do sistema lamelar e a sintomas visíveis de clorose. A diminuição no conteúdo de carboidratos, em função da deficiência de Mn, é particularmente evidente no sistema radicular, sendo, provavelmente, o fator responsável na redução de raízes em plantas deficientes neste nutriente (DECHEN E NACHTIGALL, 2006).

Por causa da importância fundamental do Mn na cadeia de transporte de elétrons durante a fotossíntese, quando ocorre deficiência deste micronutriente a reação à luz durante a fotossíntese é seriamente prejudicada e todas as outras reações associadas com o transporte de elétrons também o são. Isto inclui a fotofosforilação, redução de CO₂, de nitrito e sulfito (KIRKBY e RÖMHELD, 2007). Ainda, o Mn atua como um importante co-fator para várias enzimas-chave na biossíntese dos metabólitos secundários da planta associados com a via do ácido shiquímico, incluindo aminoácidos aromáticos fenólicos, cumarinas, ligninas e flavonóides (BURNELL, 1988). Desse modo, baixas concentrações de compostos fenólicos, ligninas e flavonóides foram detectadas em tecidos deficientes em Mn (GRAHAM, 1983). Além da função do Mn na fotossíntese, este micronutriente atua também no processo de absorção iônica, respiração, controle hormonal, metabolismo do nitrogênio e síntese de proteínas, (MALAVOLTA et al., 1989; MALAVOLTA, 2006).

4.3. Absorção e transporte de Mn

Segundo Malavolta (2006), o contato do Mn da solução do solo com a raiz se faz em maior proporção por difusão, exceto em solos muito ricos no elemento em que o fluxo de massa tem participação maior e após isto é absorvido tanto pelo mecanismo passivo (concentração na solução do solo é superior à concentração interna da raiz, logo é uma entrada a favor do gradiente de concentração) quanto ativo. Segundo Moore (1972) a absorção de Mn pelo tecido de várias plantas apresenta um processo de suas fases, sendo uma inicial rápida, controlada pelo mecanismo passivo e uma lenta, sustentada pelo mecanismo ativo. A absorção simplástica é ativa de acordo com a cinética de Michaelis-Menten. Segundo Dechen (1991) há evidências que a absorção de Mn seja controlada metabolicamente de forma similar a que ocorre para íons como o Ca⁺² e Mg⁺², pois de acordo com Marschner (1995) o Mn⁺² têm raio iônico entre o do Mg⁺² e o do Ca⁺². Considera-se que as plantas não podem absorver o Mn⁺⁴

enquanto se desconhece sua capacidade de absorver quantidade de Mn^{+3} , pois este é muito instável (DECHEN e NACHTIGALL, 2006).

O Mn é absorvido pelas plantas na forma de íon divalente, sendo reconhecidos três compartimentos de Mn nas raízes (MUNNS et al., 1963). O primeiro refere-se à fração trocável, no apoplasto, onde permanece adsorvido às cargas negativas dos constituintes da parede celular. O segundo, denominado lábil, é o Mn que se encontra no citoplasma, enquanto o último, não-lábil, refere-se ao Mn depositado nos vacúolos. Seu transporte das raízes para a parte aérea é feito como íon divalente, via xilema, seguindo a corrente transpiratória, sofrendo pouca remobilização. Nenhum transportador específico, com alta ou baixa afinidade, foi identificado até o momento (HALL e WILLIAMS, 2003), embora um transportador deste micronutriente, o AtCAX2 para desintoxicação de Mn, tenha sido estabelecido (SCHAAF et al., 2002). É um dos nutrientes que apresentam as maiores variações em termos de teor nas plantas (MUKHOPADHYAY e SHARMA, 1991). Há evidências que parte de alguns micronutrientes incluindo o Mn também sejam transportados na forma orgânica, ácido cítrico e ácido málico principalmente, mesmo quando aplicado na forma mineral (MALAVOLTA, 2006).

O Mn é facilmente transportado através do xilema das raízes até as brotações, mesmo as localizadas nos ápices da planta (HORST, 1976), já a redistribuição no floema é limitada, particularmente para o Mn aplicado via foliar (EL-BAZ et al., 1990), sendo a retransporte de Mn quelado como MnEDTA melhor que a de $MnSO_4$. Goor (1974) citado por Kabata-Pendias e Pendias (1985), relata uma concentração menor de Mn em exsudado do floema do que em tecidos das folhas, indicando que o pequeno transporte via floema explicaria sua concentração relativamente baixa em frutos, sementes e órgãos de reserva das raízes. Heenan e Campbell (1980) relatam que, na condição de bom suprimento de Mn as folhas acumulam quantidades altas conforme avança a idade da planta, sendo uma pequena parcela do elemento translocado para as folhas jovens em crescimento. A redistribuição de Mn na planta, portanto, é limitada, de modo que os sintomas de deficiência surgem nas folhas mais novas, mesmo que as folhas velhas contenham altas concentrações deste elemento (PEREIRA et al., 2001).

4.4. Glyphosate e Mn na soja

O glyphosate (N-fosfonometil glicina) foi originalmente sintetizado em 1964 como potencial quelante industrial e seu uso como herbicida foi descrito apenas em 1971. O termo glyphosate é geralmente utilizado para indicar tanto o ácido como seus sais, pois é reconhecido que eles são biologicamente equivalentes. O glyphosate é um potente herbicida de pós-emergência, largo espectro e não seletivo (YAMADA e CASTRO, 2007)

O glyphosate é absorvido pelo tecido vivo e móvel no floema, sendo rapidamente translocado por todas as partes da planta, mas tende a se acumular nas regiões meristemáticas. Feng et al. (2003) relatam que aproximadamente 80% do glyphosate absorvido pelas folhas é transportado para a raiz e partes jovens da plantas. Foi sugerido que as cargas negativas da parede celular e do plasmalema repelem o glyphosate, fortemente aniônico. A falta de uma forte ligação pode contribuir para o movimento do glyphosate no apoplasto, ou seja, ele apresenta movimentação tanto simplástica como apoplástica. Através do simplasto, o glyphosate aplicado nas folhas (fonte) é translocado para as regiões em crescimento no restante da planta (dreno), juntamente com os fotoassimilados (PETERSON et al., 1978, citado por YAMADA e CASTRO, 2007). O herbicida também pode penetrar na planta através de outras rotas. O glyphosate é o único herbicida capaz de inibir especificamente a enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs). Seu mecanismo de ação é inibir essa enzima, que catalisa a condensação do ácido shiquímico e do fosfato piruvato, evitando, assim, a síntese de três aminoácidos essenciais – triptofano, fenilalanina e tirosina (JAWORSKI, 1972; ZABLOTOWICZ e REDDY, 2004, citados por YAMADA e CASTRO, 2007).

Numerosos estudos usando NMR (nuclear magnetic resonance), fluorescência e calorimetria de varredura diferencial demonstraram que o glyphosate forma preferencialmente um complexo ternário estável com a enzima EPSP sintase e S3P (EPSP-S3P-glyphosate). Este provável complexo ternário representa a forma atualmente aceita como responsável pela atividade do herbicida (KALIANNAN et al, 2002). As plantas tratadas com glyphosate morrem lentamente, em poucos dias ou semanas, e devido ao seu transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive (COUTINHO e MAZO, 2005; COUTINHO et al., 2005).

O glyphosate é um potente inibidor submicromolar da enzima EPSPs. As bactérias que superproduzem a EPSPs podem desenvolver-se na presença de concentrações que seriam tóxicas para outros organismos. Assim, a transferência de gene com tolerância ao glyphosate a uma planta suscetível confere a esta, a tolerância ao glyphosate (GRUYS e SIKORSKI, 1999, citado por YAMADA e CASTRO, 2007). No caso da soja, a resistência ao herbicida foi obtida pela inserção de um gene (AroA) oriundo do genoma de *Agrobacterium tumefaciens*, estirpe CP4, a qual codifica uma variante da EPSPs (CP4 EPSPs), especialmente tolerante à inibição pelo glyphosate (PADGETTE et al., 1995). Sob tratamento com esse herbicida, as plantas de soja não são afetadas, devido à ação continuada e sistemática dessa enzima alternativa (TUFFI SANTOS et al., 2007). A soja geneticamente modificada é imune aos efeitos destrutivos e letais do glyphosate (PADGETTE et al., 1996).

Segundo Hoagland (1980), o glyphosate diminui o conteúdo da clorofila em hipocótilos em folhas de soja no campo, fato que, entretanto, também pode ser atribuído à deficiência de Mn (MALAVOLTA et al., 1997; GORDON, 2007). Outros pesquisadores constataram também que a clorofila é altamente sensível ao glyphosate e a natureza aclorofílica do crescimento subsequente é uma notável característica das plantas que são expostas à dose sub-letal do herbicida (WONG, 2002; SHIKHA e SINGH, 2004). A síntese do pigmento em questão é fortemente inibida pelo glyphosate por causa de seus efeitos deletérios na síntese de seu precursor, o ácido δ -aminolevulínico (ALA) (COLE, 1985; KITCHEN et al., 1981). Entretanto, há evidências que o efeito fitotóxico do AMPA (Aminomethylphosphonic acid), metabólito formado na planta com a degradação do glyphosate, seja o responsável pela redução do conteúdo de clorofila, por um mecanismo não conhecido. (REDDY et al. 2004).

O glyphosate aplicado no controle de plantas daninhas pode ser exsudado pelas raízes de plantas-alvo e ser absorvido, pelo menos em parte, pelas plantas não alvo (KREMER, 2005, RICORDI et al., 2007, TUFFI SANTOS et al., 2007), embora as quantidades não sejam grandes. Segundo Römheld (2007) a rizosfera é importante local onde ocorre a transferência do glyphosate aplicado na planta-alvo (invasoras) para a planta-não alvo (cultura) de acordo com as seguintes etapas: aplicação foliar de glyphosate nas plantas-alvo (invasoras) ou cultivares resistentes ao glyphosate (RR); rápida transporte da parte aérea para região apical das raízes via floema; armazenamento intermediário de glyphosate nas raízes e

acúmulo nos tecidos meristemáticos da planta e das raízes e liberação do glyphosate na rizosfera por meio da exsudação radicular.

Kremer et al. (2005), em seus estudos sobre o efeito da exsudação do glyphosate sobre os microrganismos, detectaram que, em cultivo hidropônico durante 16 dias após a aplicação do glyphosate, a soja RR chegou a exsudar até 1500 ng por planta e a soja não resistente, 1100 ng por planta. Observaram que o glyphosate (dose utilizada nos estudos: 840 g ha⁻¹ do equivalente ácido, e.a.) foi detectado na exsudação radicular da soja GM e da convencional dois dias após a aplicação. Ferreira et al. (2006) trabalhando com biótipos de azevém tratado com dose de glyphosate de 800 g e.a. ha⁻¹ ligado ao ¹⁴C, observaram que 22,75% de todo o ¹⁴C-glyphosate foram detectados nas raízes dos biótipos resistente duas horas após o tratamento. Os resultados indicam que ocorre uma rápida movimentação desse herbicida, sendo que o movimento está associado às velocidades de transporte de açúcares no floema, que são elevadas e, em geral, podem variar de 0,3 a 1,5 m h⁻¹ (TAIZ e ZEIGER, 2004). Ainda, Ferreira et al. (2006) verificaram que, 64 horas após o tratamento, grande parte do produto aplicado (70%, em média) não se encontrava mais presente no material, indicando sua possível eliminação pelas plantas. Alguns autores têm constatado a exsudação do glyphosate em cultivo celular, como é o caso de Hetherington et al. (1998) e pelas raízes.

Em experimentos com aplicação do glyphosate nas folhas, são observados efeitos nas plantas adjacentes, que compartilham a mesma zona radicular (COUPLAND e LUTMAN, 1982; TUFFI SANTOS et al., 2005). Rodrigues et al. (1982) comprovaram a exsudação radicular de ¹⁴C-glyphosate por plantas de trigo tratadas com esse herbicida e que plantas de milho cultivadas próximo ao trigo absorviam o ¹⁴C-glyphosate pelas raízes, distribuindo-o por todas as partes da planta, sendo as maiores concentrações encontradas nas raízes. Ricordi et al. (2007) utilizando uma dose de 1830 g ha⁻¹ do e.a. de glyphosate estudaram a exsudação por *B. brizantha*, constatando também que houve absorção pela cultura não-alvo, café e laranja. Tuffi Santos et al. (2007) observaram a exsudação do glyphosate pelas raízes de *B. decumbens* e observaram que houve absorção, via raiz, desse exsudado pelos clones de eucalipto. Entretanto, constataram que as quantidades de glyphosate absorvidas não foram suficientes para causar toxidez à cultura. Huber (2005) diz que as plantas de milho e de soja geneticamente modificadas (GM) para resistência ao glyphosate são menos eficientes na absorção de Mn que as plantas convencionais, levando em consideração

que o glyphosate nos exsudados das raízes dessas plantas e das plantas daninhas altera a microflora da rizosfera e é tóxico para os organismos redutores de manganês, que são importantes na manutenção da disponibilidade do Mn divalente (Mn^{+2}) para a absorção radicular. Além disso, segundo Huber (2007) o glyphosate causa redução na absorção e transporte de Fe, K e Mn por alterações fisiológicas.

Segundo Feng, et al. (2003) o glyphosate absorvido pelas folhas e transportado para as raízes e partes jovens da plantas sofre acumulação. A acumulação nas raízes pode resultar na formação de um complexo imóvel de Fe e Mn com o herbicida limitando dessa maneira o transporte desses nutrientes. Na formação de complexos metálicos com o glyphosate, Barja et al. (2001) e Subramaniam et al. (1988) relatam que além do grupo fosfonato, que tem habilidade de formar complexos fortes com metais, o herbicida possui outros dois grupos funcionais (amino e carboxilato) que podem se coordenar fortemente com íons metálicos.

Eker et al. (2006) em estudos com efeito de deriva de glyphosate em girassol observaram que a absorção e transporte de Fe, Mn e Zn foram afetadas por esse herbicida. O rápido e significativo decréscimo da absorção pelo girassol dos micronutrientes Fe e, em especial, do Mn pela aplicação do glyphosate, sugere que existe uma grande interferência do glyphosate no processo de absorção radicular desses micronutrientes. Concluem que o glyphosate é antagonista na absorção, transporte e acúmulo de Fe e Mn nos tecidos. A formação, nos tecidos das plantas, do complexo glyphosate-metal estável e de baixa solubilidade é relatado ser o possível responsável pelo antagonismo entre o glyphosate e micronutrientes catiônicos. Porém a natureza desse antagonismo não é bem conhecida. Neumann et al. (2006) estudando a interferência do glyphosate aplicado na planta-alvo (soja) cultivada em solução nutritiva com a planta-não alvo (girassol) observaram que o glyphosate, além da diminuição da disponibilidade de Mn, reduzia também sua absorção pelas plantas. Römheld et al. (2005) demonstraram que a soja não transgênica, após 24 h da aplicação foliar de glyphosate, teve a absorção e transporte de Mn prejudicadas com doses da ordem de 2 a 6% da normalmente recomendada.

Gordon (2007), avaliando adubações de Mn em soja GM e convencional no Kansas, em solo com pH 7,0, de textura média, com sulfato de manganês granular, aplicado em faixas, ao lado da linha de plantio, mostrou que a variedade tradicional

(KS 4202) apresentou produção superior que a sua isolinha resistente ao glyphosate (KS 4202 RR), quando na ausência de Mn. Porém, com adições crescentes de Mn a soja resistente ao glyphosate respondeu favoravelmente à aplicação, enquanto a variedade tradicional apresentou queda de produtividade nas doses mais elevadas. No estágio de pleno florescimento, na condição sem Mn, observou-se que o teor foliar de Mn na soja GM era menos do que a metade do observado na variedade convencional. Observou-se também, que na soja resistente ao glyphosate, além de corrigir os sintomas de deficiência, adubação de plantio combinada com aplicação de quelato de Mn líquido via foliar no estágio V4 (FEHR e CAVINESS, 1977), como, três aplicações foliares nos estádios V4, V8 e R2 (FEHR e CAVINESS, 1977), maximizaram sua produção.

Já é sabido que a soja é uma cultura muito sensível à deficiência de Mn e responde muito bem às aplicações foliares do elemento (MALAVOLTA, 2006). Entretanto, estas pesquisas realizadas por Gordon (2007) evidenciam a possibilidade da soja GM, utilizada nos estudos, não acumular Mn da mesma maneira que a convencional.

Entretanto, o glyphosate quando aplicado em sub-dose pode promover um estímulo ao crescimento de plantas. Godoy (2007) observou que as doses de 3,6 a 36 g ha⁻¹ do e.a. de glyphosate promoveu o estímulo no crescimento da soja convencional BRS 232. Veline et al. (2006) trabalhando com doses de 2 a 720 g de e.a. ha⁻¹ de glyphosate em soja convencional e milho, observaram aumento máximo da biomassa da parte aérea de 27,81% e 25,46%, para as doses de 14,2 e 22,6 g ha⁻¹ do e.a., respectivamente.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Foram desenvolvidos dois experimentos em casa de vegetação no Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP-Botucatu.

5.1. Cultivares

A cultivar de soja BRS Valiosa RR foi obtida por cinco retrocruzamentos para a cv. MG/BR-46 Conquista. As informações que aqui constam, referentes às características da cultivar transgênica, foram obtidas nos estados de Minas Gerais, Goiás e Distrito Federal, onde foi avaliada inicialmente e onde é recomendada. A BRS Valiosa RR possui período juvenil longo, é do tipo de crescimento determinado (TOLEDO, 2008). Por ter como parental a cultivar Conquista, é bastante semelhante a ela, inclusive com as características de produtividade, estabilidade, resistência a pragas e doenças típicas dessa cultivar (SOUZA et al., 2006). Conquista e Valiosa RR apresentam ciclo médio de 125 dias, pertencentes então, ao grupo de maturação semitardio (126 a 145 dias) quando indicadas para o cultivo no estado de Minas Gerais (SISTEMAS DE PRODUÇÃO 11, 2006).

5.2. Experimento 1: Acúmulo e distribuição de Mn na planta

As sementes das cultivares Conquista e Valiosa RR foram tratadas com fungicida de contato Captan (Grupo químico: dicarboximida) e colocadas para germinar em papel de germinação umedecido com água deionizada em câmara de germinação a 25 °C, em 22 de abril de 2009. As plântulas foram selecionadas quanto à sanidade e uniformidade após cinco dias. No oitavo dia, estágio fenológico correspondente ao VE (FEHR e CAVINESS, 1977) as plântulas foram transferidas para vasos plásticos de capacidade para 8 L contendo 6 L de solução nutritiva formulada conforme Hoagland (HOAGLAND e ARNON, 1950) a qual sofreu modificação somente no nível de Mn. As concentrações de macro e micronutrientes estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração dos nutrientes utilizados no experimento. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Macronutriente	Concentração (mg L ⁻¹)	Micronutriente	Concentração (mg L ⁻¹)
N	210	B	0,5
P	31	Cu	0,02
K	234	Fe	5
Ca	200	Mn*	0,5
Mg	48	Mo	0,01
S	64	Zn	0,05

*Os níveis de Mn utilizados no estudo estão descritos ao longo do texto.

Os vasos foram pintados na cor branca com o intuito de evitar o aquecimento excessivo da solução nutritiva.

Na primeira semana, a solução empregada foi diluída a 1/10 já iniciando os tratamentos com os níveis de Mn. Na segunda semana, a solução foi diluída a 1/2 e a partir da terceira semana, usou-se a solução completa. A solução nutritiva foi mantida aerada constantemente e procedeu-se a troca semanalmente, mantendo-se com variação máxima de 5% do volume. Primeiramente foram transferidas três plântulas, com o objetivo de garantir a sobrevivência de duas plântulas a serem cultivadas em cada vaso. Após uma semana de cultivo a terceira plântula foi excluída. As plântulas foram fixadas com espumas em placas

de polipropileno expandido, em que apenas o sistema radicular ficou em contato com a solução nutritiva. A solução de crescimento teve seu valor de pH monitorado, com medições a cada dois dias, e corrigido, quando necessário, para mantê-lo em torno de 5,5, através da adição de 0,1 N de HCl ou NaOH (MARTINEZ, 2002). Em função da forma que o nitrogênio foi suprido, nitrato (NO_3^-), houve aumento do pH após poucos dias de cultivo. A temperatura da solução foi monitorada e não ultrapassou 30°C e a temperatura média da casa de vegetação durante todo o experimento foi de 21,7°C.. Os níveis de Mn^{+2} foram: 0,000; 0,085; 0,125; 0,250 e 0,500 mg L^{-1} . Foram cultivadas as cultivares Conquista, Valiosa RR sem aplicação de glyphosate e Valiosa RR com aplicação do glyphosate via foliar. No tratamento com soja transgênica e glyphosate, as plantas foram submetidas à aplicação de 720 g ha^{-1} em equivalente ácido (e.a.), utilizando o produto formulado à base do sal isopropilamina (contém 480 g e.a. por litro do produto comercial). A aplicação foi realizada em 25 de maio de 2009, ou seja, 25 dias após o início da condução do experimento, V4/V5 (FEHR e CAVINESS, 1977). A pulverização foi feita com as plantas fora da casa de vegetação, utilizando um pulverizador costal pressurizado (CO_2) equipado com ponta de pulverização DG TEEJET 110-02 com volume de calda de 200 L ha^{-1} . Após a pulverização, as plantas foram retornadas a casa de vegetação e foram mantidas isoladas das demais durante um período superior seis horas a fim de evitar contaminações. No final do dia restabeleceu-se o delineamento. Aos 15 dias após a aplicação do herbicida procedeu-se a desmontagem do experimento, coletando-se as plantas de todos os tratamentos. No momento da coleta, separaram-se as plantas em folhas, hastes (caule e ramos) e raízes.

5.2.1. Determinações

5.2.1.1. Análise química das plantas

O material foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa de circulação forçada, a 60 °C por 48 horas. Determinou-se, então, massa de matéria seca das folhas, hastes e raízes das plantas. Os tecidos vegetais foram moídos em moinho tipo “Willey” e submetidos à digestão em solução ácida nítrico-perclórica, conforme Malavolta et al. (1997) e efetuou-se a leitura dos extratos usando um Espectrofotômetro de Absorção Atômica.

5.2.1.2. Eficiência de absorção e relação copa/raiz

Determinou-se o valor da eficiência de absorção pela fórmula: E.A. = (miligrama do nutriente na planta / grama de massa da matéria seca de raiz).

Calculou-se a Relação Copa/Raiz dividindo-se a massa de matéria seca da parte aérea pela massa de matéria seca de raiz.

5.2.2. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento utilizado foi o de blocos completos ao acaso, em esquema fatorial 5 x 3, com quatro repetições. O primeiro fator é representado por cinco níveis de Mn e o segundo, por duas cultivares de soja, sendo que um dos tratamentos com a cultivar Valiosa RR recebeu aplicação de glyphosate via foliar.

Foi feita a análise de variância dos dados originais para as variáveis: teor e acúmulo de Mn, massa de matéria seca, percentagem de acúmulo de Mn (todas referentes às partes das plantas), eficiência de absorção e relação copa/raiz. Quando detectada variação significativa entre cultivares, as médias foram comparadas usando o teste t LSD ($P < 0,05$). Equações de regressão foram ajustadas para os níveis de Mn quando pertinente. Os resultados da análise estatística foram obtidos por meio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

5.3. Experimento 2: Cinética de absorção

Em 24 de junho de 2009, sementes da cultivar de soja Valiosa RR foram germinadas e selecionadas nas mesmas condições do experimento anterior. No oitavo dia, VE (FEHR e CAVINESS, 1977), 02 de julho de 2009, transferiu-se quatro plântulas para vasos plásticos, também pintados de branco, com 3,5 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950). A fixação das plântulas, o manejo e as trocas da solução nutritiva seguiram os mesmos procedimentos já descritos anteriormente para o experimento 1. Na segunda semana de cultivo a quarta plântula foi eliminada, cultivando-se três plantas por vaso.

Aplicou-se o glyphosate aos 26 dias de cultivo, V4/V5 (FEHR e CAVINESS, 1977), com consumo de calda, equipamento, formulação e procedimentos

idênticos ao anterior. As doses do herbicida glyphosate utilizadas foram: 0 (zero), 15⁽¹⁾ e 960⁽²⁾ g de e.a ha⁻¹. No segundo dia após a aplicação do herbicida, toda a solução nutritiva foi trocada por uma sem Mn. Nessa operação, os vasos e as raízes foram lavados com água corrente. As plantas foram mantidas por 48 horas na condição de ausência de Mn. Posteriormente, outra solução nutritiva foi adicionada num volume de 3 L, incluindo-se agora o Mn em nível de 0,25 mg L⁻¹. O volume da solução nutritiva foi mantido constante durante todo o período experimental. No estudo da cinética de absorção utilizou-se a técnica de esgotamento da solução, de acordo com Claassen e Barber (1974). Antes que a solução fosse colocada nos vasos, retiraram-se amostras que foram acondicionada em frascos com capacidade de 8 mL. As coletas das amostras de solução foram iniciadas após 30 minutos. Nessa operação tomou-se alíquotas de 5 mL aos 0, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 900 e 1440 minutos. O período de absorção foi de 34 horas. A temperatura média da casa de vegetação durante todo o período experimental foi de 20,8°C. A temperatura da solução durante o experimento de exaustão permaneceu entre 22 e 28°C. Após o experimento de exaustão, as plantas foram coletadas e divididas em folhas, hastes e raízes.

5.3.1. Determinações

5.3.1.1. Análise química das plantas

O material foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa de circulação forçada, a 60 °C por 48 horas. Determinou-se, então, massa de matéria seca das folhas, hastes e raízes das plantas. Os tecidos vegetais foram moídos em moinho tipo “Willey” e submetidos à digestão em solução ácida nítrico-perclórica, conforme Malavolta et al. (1997) e efetuou-se a leitura dos extratos usando um Espectrofotômetro de Absorção Atômica.

5.3.1.2. Análise da solução de exaustão

Efetuuou-se a leitura das alíquotas usando um Espectrofotômetro de Absorção Atômica.

¹ A sub-dose de 15 g ha⁻¹ foi utilizada procurando-se obter estímulo no crescimento conforme Godoy (2007)

² Dose dentro do intervalo da recomendada em única aplicação no período ideal de 20 a 30 dias após emergência da cultura (GAZZIEIRO et al., 2007)

5.3.1.3. Parâmetros cinéticos de absorção

Os dados da concentração de Mn na solução de exaustão, em cada tempo de amostragem, bem com os dados relativos ao volume inicial e final de solução nos vasos, tempo total de amostragem, volume da amostra, e a massa da matéria seca de raiz, foram utilizados para calcular os parâmetros cinéticos empregando o software CinéticaWin, (versão para o Windows do Cinética 1.2 (RUIZ e FERNANDES FILHO, 1992). Os valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$ foram obtidos considerando-se a massa de matéria seca radicular como base de cálculo, conforme Sacramento e Rosolem (1996). Os valores da taxa de influxo foi calculado com base na quantidade (μmol) de Mn absorvido pela planta em relação a unidade de massa de matéria seca de raiz mediante a utilização de aproximação gráfico-matemática (RUIZ, 1985).

O $C_{\min}$ foi estimado pela média dos valores da concentração de Mn na solução de exaustão, a partir do ponto que permanecera constantes, ou seja, foi considerado como sendo a concentração de Mn presente nas amostras de solução após 34 horas do início do período das amostragens.

5.3.2. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi em blocos completos ao acaso constituído por três tratamentos (doses de glyphosate) e sete repetições.

O estudo estatístico das variáveis observadas, teor e acúmulo de Mn, massa de matéria seca (todas referentes às partes das plantas) e os parâmetros cinéticos, constou de análise de variância dos dados originais e aplicação do teste t LSD ($P < 0,05$) para as médias obtidas. Os resultados da análise estatística foram obtidos por meio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

As doses de glyphosate foram analisadas como fator qualitativo, pois não se pretendia encontrar uma resposta das variáveis em função das doses de glyphosate.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Experimento 1: Acúmulo e distribuição de Mn na planta

6.1.1. Teores nas diferentes partes da planta

Verificou-se interação significativa dos níveis de Mn e cultivares, somente para os teores radiculares (Tabela 2). Nesse caso, existe comportamento diferenciado das cultivares com a elevação do nível de Mn na solução nutritiva. Para as folhas, houve efeito principal dos níveis de Mn na solução nutritiva. Já nos teor de Mn nas hastes observou-se efeito principal para ambos, níveis de Mn e cultivares.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para o teor de Mn nas folhas hastes e raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)		
		Folhas	Hastes	Raízes
Blocos	2	0,0205	0,0002	0,2543
Níveis de Mn	4	0,0001	0,0001	0,0001
Cultivares	2	0,1784	0,0001	0,3041
Níveis x Cv.	8	0,1971	0,0791	0,0255
Resíduo	42			
Total	59			
CV (%)		16,50	20,84	26,45

Por não haver interação ou mesmo efeito principal de cultivares para o teor foliar de Mn, nota-se que não houve efeito da inclusão do gene da resistência, ou seja, o teor foliar de Mn da cultivar transgênica não diferiu da convencional, diferentemente do que aconteceu com as cultivares transgênica e convencional estudadas por Gordon (2007). Verificou-se também, que a presença do herbicida não afetou o teor foliar de Mn na soja transgênica (Figura 1). Em função dos níveis de Mn, as cultivares responderam de forma quadrática, apresentando sintomas de deficiência de Mn no nível zero do elemento na solução nutritiva.

Santos et. al. (2007) avaliaram o efeito da aplicação de três marcas comerciais de glyphosate - Roundup Ready® e R. Transorb®, formuladas à base do sal de isopropilamina, e Zapp Qi®, à base do sal potássico, sobre a soja transgênica (cultivar CD 219RR). Verificaram, na ocasião do florescimento, que os teores dos micronutrientes Zn e Mn e os macronutrientes P, K, S, não foram alterados pela ação dos produtos. Assim como Broch e Ranno (2008), também não verificaram danos do glyphosate na nutrição de Mn da soja. Zobiole et al. (2009), em experimentação com soja convencional, de grupo de maturação distintos, e suas respectivas linhagens modificadas, constataram redução nos valores dos teores dos micronutrientes Zn, Mn, Fe, Cu e B na cultivar de maturação precoce, BRS 242 RR, tanto pela inclusão do gene da resistência como pela ação do herbicida glyphosate (aplicação única ou sequencial de 1200 g de e.a. ha⁻¹ do glyphosate formulado com o sal isopropilamina). Além disso, na cultivar de maturação precoce, a redução dos micronutrientes foi mais pronunciada com a utilização do herbicida. As cultivares do grupo de maturação médio (BRS 245 RR) e tardio (BRS 247 RR) não apresentaram redução no teor de Mn em função do gene da resistência, mas sim, quando as plantas foram tratadas com o glyphosate. Zobiole et al. (2009) comentam que essas diferenças entre as reduções no teor de nutrientes e as cultivares transgênicas, provavelmente esteja relacionado com o grupo de maturação que estão classificadas. No caso desses autores, a cultivar de maturação precoce sofreu maior redução nos teores de nutrientes, por influência do gene da resistência ao glyphosate. Dessa forma a não existência de modificações na nutrição do Mn das cultivares Conquista e Valiosa RR, poderia ser explicada por pertencerem ao grupo de maturação semitardio (126 a 145 dias) (SISTEMAS DE PRODUÇÃO 11, 2006; SEDIYAMA et al., 2009).

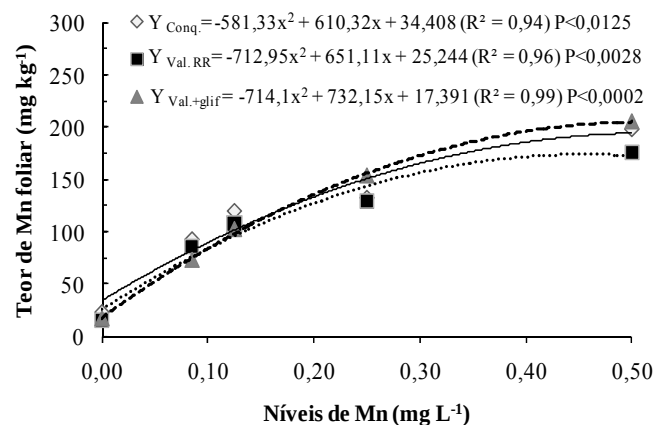


Figura 1. Teor de Mn nas folhas das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

O teor de Mn nas hastes apresentou aumento significativo, independente do nível de Mn na solução, quando às plantas transgênicas foram tratadas com glyphosate (Figura 2A). Nota-se, portanto, que o glyphosate alterou o teor de Mn na haste. Já o gene da resistência não modificou o teor de Mn da haste das cultivares convencional e transgênica. O teor de Mn das hastes apresentou comportamento quadrático em função dos níveis de Mn (Figura 2B).

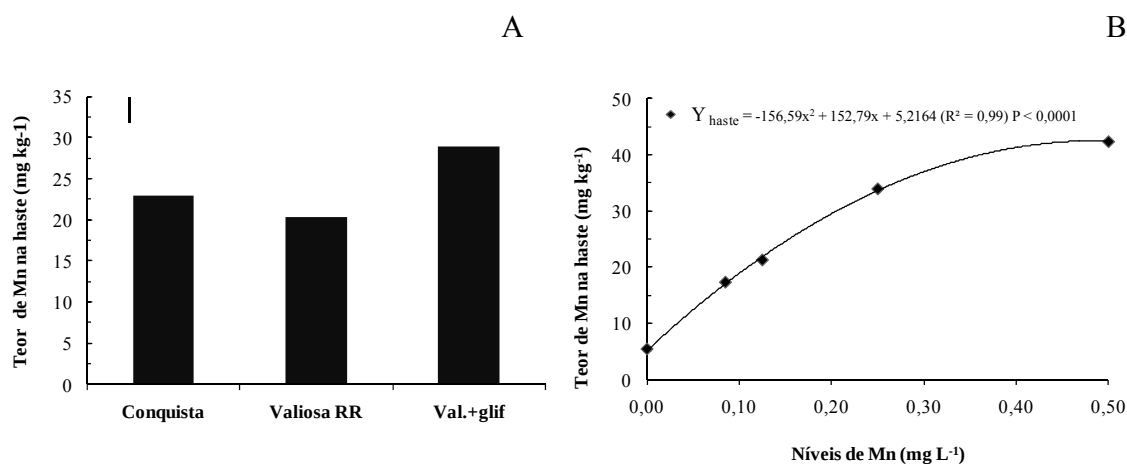


Figura 2. **A-** Teor de Mn nas hastes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. Barra vertical representa o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos. **B** - Teor de Mn nas hastes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

O teor radicular de Mn mostrou diferença entre os tratamentos nos maiores níveis de Mn na solução de crescimento (Figura 3). Entretanto, nota-se que não houve efeito tanto do glyphosate quanto da transgenia, pois no nível 0,250 mg de Mn L⁻¹ a Valiosa RR apresentou o menor teor e no nível mais elevado de Mn, o maior. Para a Valiosa RR, tratada com glyphosate, ocorre o inverso. Observa-se ainda, que a cultivar Valiosa RR, independente da aplicação do glyphosate, exibiu maior incremento linear no teor de Mn com o aumento do nível Mn na solução de crescimento.

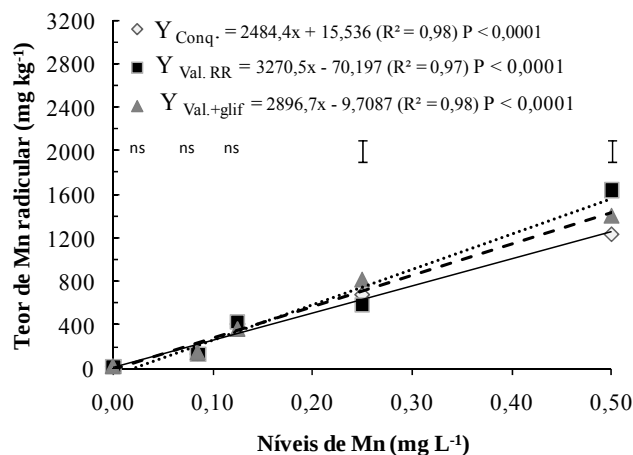


Figura 3. Interação do teor radicular de Mn das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar, com os níveis de Mn na solução nutritiva. Barras verticais representam o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos dentro de cada nível de Mn. ^{ns} não significativo. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

É possível a formação de um complexo estável entre o glyphosate e Mn (COUTINHO e MAZO, 2005; GLASS, 1984) o que limitaria a absorção e transporte do elemento na planta (EKER et al., 2006). Segundo Feng et al. (2003) o glyphosate absorvido pelas folhas é transportado na planta e acumulado nas raízes e partes jovens. A acumulação na raiz pode afetar negativamente no transporte de elementos metálicos, como Fe e Mn. A possibilidade para a eventual redução no teor de manganês seria que o glyphosate, considerado um ácido fosfônico (FRANZ et al. 1997), funcionaria como “quelatizante” de cátions metálicos (KABACHNIK et al. 1974), podendo formar quelatos com cátions bi e trivalentes. Contudo, no presente estudo não se constatou alterações conclusivas que confirmem o efeito depressor do glyphosate, tanto na absorção do Mn quanto no transporte do nutriente para as demais partes da planta. É interessante ressaltar o aumento no teor de Mn nas hastes das plantas transgênicas tratadas com glyphosate, mesmo assim, não houve alterações nos teores das outras partes da planta.

Buscando-se avaliar a nutrição da soja com Mn como um todo, observou-se que os teores de Mn nas folhas, no nível zero de Mn, são considerados

inadequados para o bom desenvolvimento e produção da cultura da soja. Segundo Malavolta et al., (1997) teores abaixo de 20 mg kg^{-1} é considerado o nível crítico. No presente estudo a cultivar Conquista tem seu teor foliar muito próximo do crítico (22 mg kg^{-1}) enquanto que a cultivar Valiosa RR e Valiosa RR+glyphosate, respectivamente, apresentando 15 e 17 mg kg^{-1} estão abaixo do nível crítico (Figura 1).

A partir da 3ª semana de cultivo, estágio fenológico V3 (FEHR e CAVINESS, 1977), observaram-se no nível zero de Mn sintomas de deficiência desse elemento nas duas cultivares, sendo que visualmente, os sintomas foram mais pronunciados na cultivar Conquista. Os sintomas acentuaram-se com o tempo de cultivo. Observou-se trifólios pequenos, levemente estreitos e enrugados, limbo foliar, especialmente os mais novos, exibindo sintomas característicos de deficiência de Mn (clorose internerval) (Figura 4). Com o decorrer do cultivo os sintomas evoluíram para amarelecimento generalizado com aparecimento de pontos necróticos marrons (Figura 5). Estes sintomas concordam com descrição de deficiência de Mn existente na literatura (TAIZ e ZEIGER, 2004; MALAVOLTA & KLIEMANN, 1985; MUKHOPADHYAY e SHARMA, 1991; DECHEN E NACHTIGALL, 2006).

Embora a principal função fisiológica do Mn seja na participação da reação de Hill, dentro da fotossíntese, os sintomas de clorose com manchas em dicotiledôneas podem ser causadas por um distúrbio na estrutura do cloroplasto como consequência de uma inibição da síntese de lipídios. Também em dicotiledôneas pode ocorrer a inibição da formação de pigmentos do cloroplasto e giberelinas pela deficiência do Mn na síntese de isoprenóides causando sintomas cloróticos nas folhas jovens (RÖMHELD, 2001).

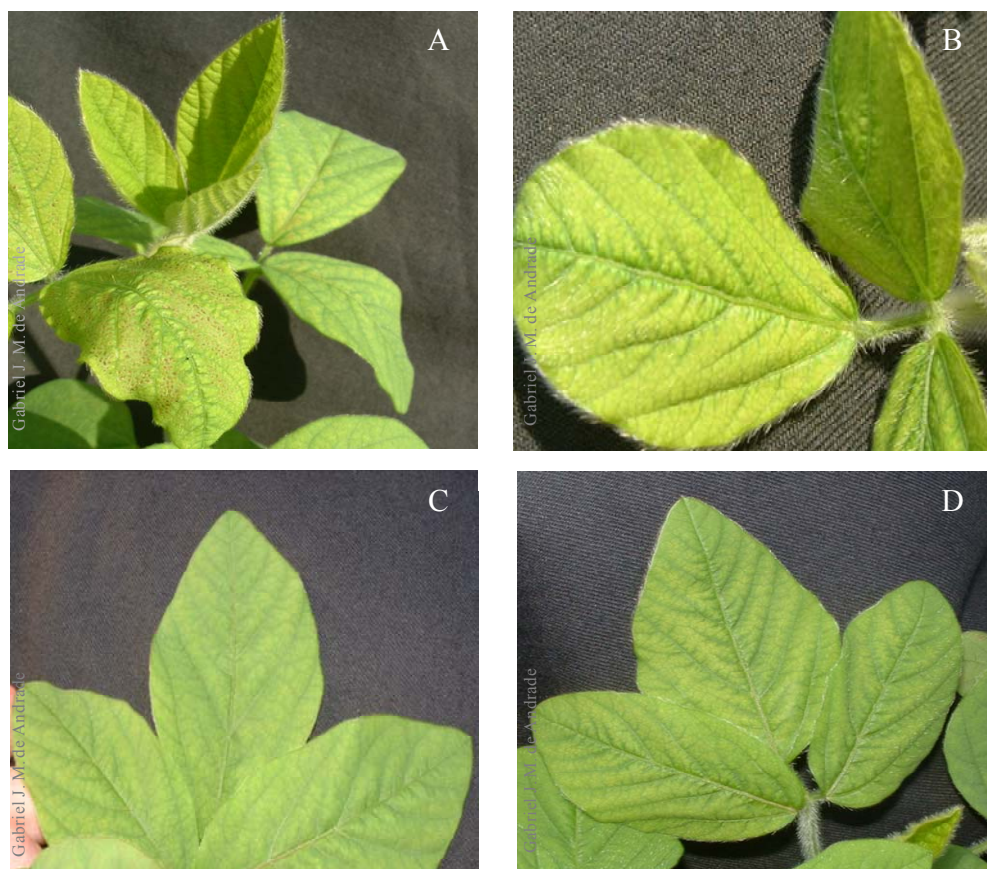


Figura 4. Sintomas de deficiência de Mn nas cultivares Conquista (A e B) e Valiosa RR (C e D) com 18 dias de cultivo no nível zero de Mn na solução de crescimento. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.



Figura 5. Sintomas de deficiência de Mn nas cultivares Conquista (A) e Valiosa RR (B) com 25 dias de cultivo no nível zero de Mn na solução de crescimento. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Na ocasião da aplicação do glyphosate à base do sal isopropilamina, foi observado sintomas de injúrias nas folhas, caracterizadas por pequenas manchas necróticas e irregulares. Os sintomas ficaram restritos às folhas que interceptaram o jato de pulverização. As folhas novas, emitidas após a aplicação, não apresentaram sintomas. Há relatos que a existência de injúrias nas folhas esteja associada à presença do adjuvante aminado na formulação do produto comercial (MATALLO et al., 2009; CORREIA e DURIGAN, 2007). Segundo Reddy e Zablotowicz (2003), a injúria como necrose pode ser em função do sal de glyphosate, surfactantes ou outro ingrediente na formulação do glyphosate.

Em alguns casos, como observado no trabalho de ANDRADE et al. (2009), as plantas de soja RR submetidas a aplicação do glyphosate (sal isopropilamina) apresentaram sintomas de amarelecimento nas folhas alguns dias após a aplicação do herbicida, fenômeno conhecido como “yellow flashing” ou amarelecimento das folhas. Reddy et al. (2004) também comentaram a observação de clorose após a aplicação do sal isopropilamina de glyphosate. Entretanto, a causa exata da formação da clorose em soja geneticamente modificada, tratada com glyphosate, não é conhecida.

Segundo Hoagland (1980), o glyphosate diminui o conteúdo da clorofila em hipocótilos e em folhas de soja no campo. Outros pesquisadores constataram também que a clorofila é altamente sensível ao glyphosate e a natureza aclorofílica do crescimento subsequente é uma notável característica das plantas que são expostas à dose subletal do herbicida (WONG, 2000; SHIKHA e SINGH, 2004). Reddy et al. (2004), sugerem que o metabólito formado na degradação do glyphosate, o AMPA (*Aminomethylphosphonic acid*), reduza o conteúdo de clorofila. Algumas cultivares de soja geneticamente modificadas apresentam nenhum amarelecimento, enquanto outras, podem apresentar alta fitointoxicação causada pelo glyphosate. Segundo Reddy et al. (2004), as injúrias causadas pelo AMPA em soja transgênica tratada com glyphosate é dependente do nível de AMPA formado na planta, do genótipo, de condições ambientais e dose do glyphosate. Tais injúrias ou fitointoxicação foram observadas em condições de campo no Centro Oeste brasileiro, porém sem efeito na nutrição com Mn ou na produção (BROCH e RANNO, 2008).

6.1.2. Massa de matéria seca (MMS)

Por meio da Tabela 3 observa-se efeito principal dos níveis de Mn na produção de MMS, para o total e as demais partes da planta. Para a MMS de raízes, além dos níveis de Mn, houve também, efeito principal de cultivares.

Em todos os casos, a inclusão do gene da resistência não alterou o crescimento e desenvolvimento das plantas, assim como, exceto para as raízes, o herbicida não exerceu influências na produção de MMS. Resultados semelhantes foram encontrados por Correia e Durigan (2007), os quais utilizaram dose de 1,2 kg ha⁻¹ de equivalente ácido de glyphosate de vários produtos comerciais e constataram que tais herbicidas não influenciaram o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas de soja GM.

Tabela 3. Resumo da análise de variância para massa de matéria seca (MMS) das folhas, hastes, raízes e total das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)			
		Folhas	Hastes	Raízes	Total
Blocos	2	0,4287	0,0330	0,4028	0,2710
Níveis de Mn	4	0,0001	0,0003	0,0001	0,0001
Cultivares	2	0,2146	0,1775	0,0005	0,0616
Níveis x Cv.	8	0,5503	0,3235	0,4690	0,5078
Resíduo	42				
Total	59				
CV (%)		18,02	19,28	24,36	16,17

A produção de MMS de raízes foi alterada negativamente pelo herbicida glyphosate, independente do nível de Mn adicionado à solução nutritiva (Figura 6). O decréscimo foi de 28,8% em relação à produção de matéria seca de raiz da cultivar transgênica não tratada com o herbicida. Há evidências que o efeito fitotóxico do AMPA (*Aminomethylphosphonic acid*), metabólito formado na planta com a degradação do glyphosate, seja o responsável pela redução do crescimento da planta GM e do conteúdo de clorofila, por um mecanismo não conhecido. (REDDY et al. 2004). King et al. (2001), em estudos com soja RR, verificaram que a aplicação parcelada de glyphosate em doses elevadas

(5 a 8,4 kg do produto comercial ha^{-1}) diminuiu o crescimento radicular e a nodulação. Bott et al. (2008) também verificaram redução na MMS de raiz da cultivar Valiosa RR quando tratada com glyphosate, relatando ainda, que a morfologia da raiz foi alterada, causando declínio na alongamento e redução no desenvolvimento das raízes laterais. Entretanto, comentam que, no estudo, em nível insuficiente de Mn na solução, a redução da MMS radicular não ocorreu, alegando que a conversão enzimática do glyphosate em AMPA em soja transgênica requer certo nível externo de Mn. Porém, no presente estudo, a redução da MMS radicular foi independente do nível de Mn empregado na solução (Figura 6). Oliveira Jr. et al. (2008) encontraram redução na produção de massa de matéria seca de raiz e, dentre as cultivares estudadas com aplicação única de glyphosate ($900 \text{ g e.a. ha}^{-1}$), a Valiosa RR foi uma das quais apresentaram tal redução. Zobiolo et al. (2009) estudando cultivares transgênicas e suas respectivas isolinhas não transgênicas observaram que, independente do manejo de aplicação do glyphosate, tanto a produção de matéria seca da parte aérea quanto a da raiz foram reduzidas. Os autores relatam ainda sobre a diminuição de parâmetros fotossintéticos por ação do glyphosate, que poderia ser por danos diretos nos cloroplastos, acarretando em prejuízos no processo fotossintético e assim, as plantas de soja transgênicas tratadas com o herbicida, não produziram eficientemente compostos carbônicos, levando a menor produção de biomassa.

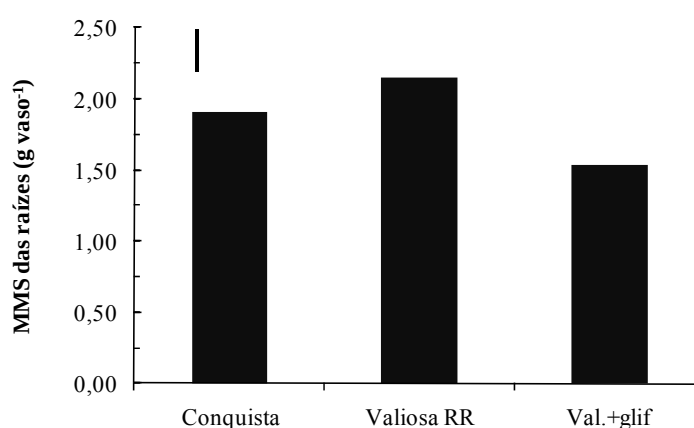


Figura 6. Massa de matéria seca (MMS) de raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. Barra vertical representa o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Para explicar o efeito principal dos níveis de Mn, efetuou-se a análise de regressão. Entretanto, as curvas com efeito biológico, quadrática ou linear, quando significativas, apresentaram coeficiente de determinação baixo, ou seja, a curva ajustada não explica eficientemente a resposta das massas de matéria seca aos níveis de Mn da solução nutritiva. Tentou-se ajustar outros tipos de curvas, mas sem sucesso. Assim, procedeu-se a comparação das variáveis de massa de matéria seca por teste de comparações de médias, comparando-as nos diferentes níveis de Mn (Figura 7).

Todas as variáveis de MMS foram significativamente menores no nível zero de Mn. A inibição do crescimento das plantas deficientes em Mn pode estar associada à diminuição de carboidratos não estruturais, devido ao Mn, envolvido no processo fotossintético, participar efetivamente no conteúdo desses carboidratos. A diminuição de carboidratos solúveis é particularmente evidente nas raízes (MARSCHNER, 1995, DECHEN E NACHTIGALL, 2006). De acordo com Marengo e Lopes (2009), na deficiência de Mn, o alongamento é afetado e reduz o rendimento.

A produção de matéria seca total da planta (Figura 7) atingiu um pico no nível de $0,085 \text{ mg L}^{-1}$, para as cultivares Conquista e Valiosa RR, ocorrendo um pequeno decréscimo com o incremento dos níveis de Mn, mas sem diferir dos outros níveis até o maior nível do nutriente. Heenan e Carter (1976) consideraram que a concentração de $0,097 \text{ mg L}^{-1}$ de Mn na solução nutritiva, foi ótima para o desenvolvimento de quatro cultivares de soja.

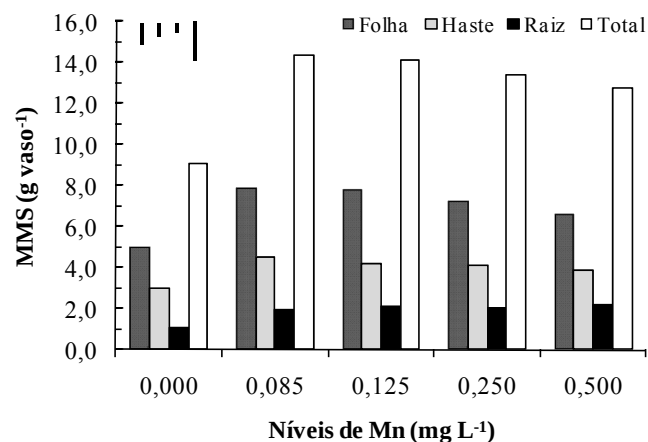


Figura 7. Massa de matéria seca (MMS) das folhas, hastes, raízes e total nos diferentes níveis de Mn na solução nutritiva. Barras verticais representam o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação de uma variável nos diferentes níveis de Mn. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

6.1.3. Acúmulo de Mn

Verificou-se efeito principal dos níveis de Mn para o acúmulo de Mn nas folhas e hastes e interação significativa no acúmulo de Mn nas raízes e total. (Tabela 4)

Tabela 4. Resumo da análise de variância para o acúmulo de Mn nas folhas, hastes, raízes e total das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)			
		Folhas	Hastes	Raízes	Total
Blocos	2	0,0370	0,0002	0,2641	0,1025
Níveis de Mn	4	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Cultivares	2	0,1264	0,0839	0,0052	0,0462
Níveis x Cv.	8	0,9297	0,1389	0,0003	0,0152
Resíduo	42				
Total	59				
CV (%)		24,38	26,06	43,90	38,39

O acúmulo de Mn nas folhas e hastes é representado pelo modelo quadrático (Figura 8A e B). Mesmo havendo somente efeito principal do nível de Mn optou-se por ilustrar o comportamento das cultivares. Nesses dois casos, não se observou danos tanto da transgenia quanto do glyphosate

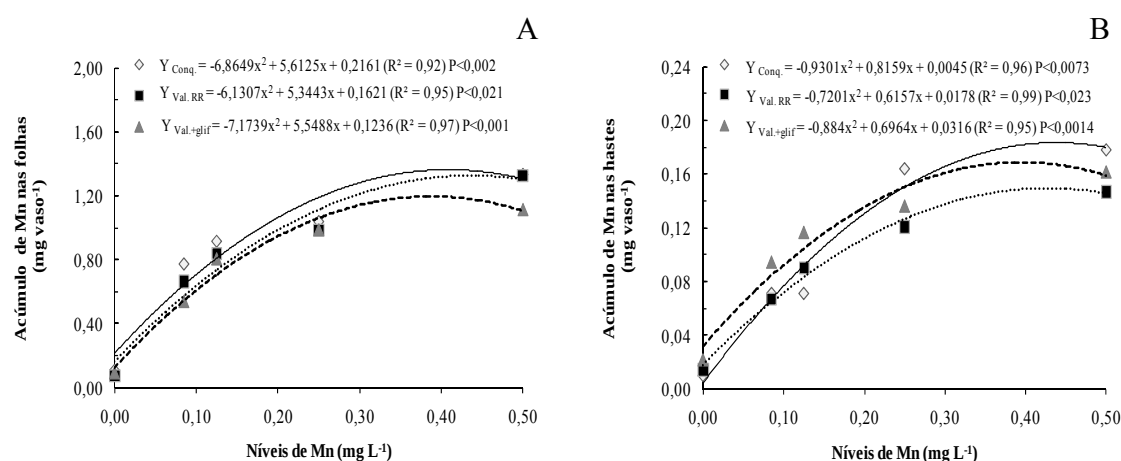


Figura 8. Acúmulo de Mn nas folhas (A) e hastes (B) das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

A interação significativa para os acúmulos de Mn nas raízes e total indica que as cultivares foram influenciadas pelos níveis de Mn. Observa-se na Figura 9A, que todas as cultivares apresentaram aumento linear nos acúmulos radiculares de Mn. Entretanto, a cultivar Valiosa RR acumulou maior quantidade de Mn que os outros dois tratamentos no nível 0,50 mg de Mn L⁻¹. Constatou-se na Figura 9B que o acúmulo total seguiu padrão muito semelhante ao observado nas raízes. No acúmulo total de Mn a cultivar Conquista apresentou resposta quadrática com máximo acúmulo estimado de 4,38 mg vaso⁻¹ no nível estimado de 0,49 mg de Mn L⁻¹. A cultivar Valiosa RR com e sem glyphosate apresentou resposta linear, sendo que, no maior nível de Mn na solução, a cultivar transgênica tratada com glyphosate apresentou menor acúmulo, aproximadamente 44% a menos Mn que o acumulado nela sem o herbicida. (Figura 9B). O acúmulo total de Mn da cultivar Valiosa RR também foi maior que o da Conquista no maior nível de Mn. Bott et al. (2008) relatam maior acúmulo de Mn na cultivar Valiosa RR em relação a Conquista, dessa maneira, comentam que a cultivar Valiosa

RR demanda mais Mn que a convencional numa condição de maior suprimento do micronutriente. Por outro lado, Bott et al. (2008) apresentam somente o acúmulo de Mn nas folhas sendo que, os resultados do presente trabalho mostram que nas folhas não houve diferença entre o acúmulo de Mn e sim, existiu diferenças nas raízes. É válido destacar que o nível de Mn considerado adequado nos experimentos de Bott et al. (2008), corresponde a $0,027 \text{ mg de Mn L}^{-1}$, muito abaixo do nível $0,500 \text{ mg de Mn L}^{-1}$, o qual ocorreu diferenças no presente estudo.

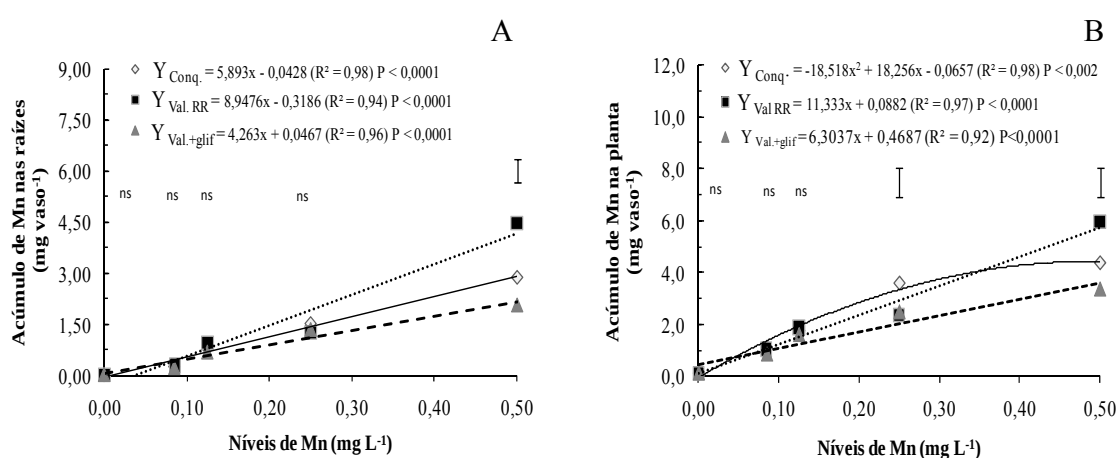


Figura 9. Interação do acúmulo de Mn nas raízes (A) e do total na planta (B) das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar, com os níveis de Mn na solução nutritiva. Barras verticais representam o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos dentro de cada nível de Mn. ^{ns} não significativo.

6.1.4. Eficiência de absorção e relação copa/raiz

A eficiência de absorção (E.A.) apresentou apenas efeito dos níveis de Mn na solução. Já a relação copa/raiz teve efeito principal dos níveis e também das cultivares (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância para eficiência de absorção (E.A.) e relação copa/raiz das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)	
		E.A.	Relação Copa/Raiz
Blocos	2	0,0263	0,1590
Níveis de Mn	4	0,0001	0,0001
Cultivares	2	0,3026	0,0001
Níveis x Trat.	8	0,3320	0,5252
Resíduo	42		
Total	59		
CV (%)		25,83	16,17

O cálculo da eficiência de absorção (E.A.) é interpretado com sendo miligramas de Mn absorvido em relação à unidade de grama de raiz. Verificou-se que a E.A. das cultivares aumentaram conforme o incremento dos níveis de Mn, porém, mesmo ocorrendo somente efeito principal de níveis, também se achou conveniente apresentar os comportamentos dos tratamentos (Figura 10). A cultivar Conquista apresenta uma resposta quadrática aos níveis de Mn e a cultivar Valiosa RR, com e sem glyphosate, linear. Dessa forma notou-se que a eficiência de absorção não foi influenciada pela transgênica, assim como não foi pelo glyphosate. O aumento da E.A. com a elevação dos níveis de Mn seria de se esperar, pois à medida que existe maior quantidade do elemento disponível na solução maior quantidade do nutriente pode ser absorvido pelas raízes.

Vale ressaltar ainda que, mesmo com uma menor produção de matéria seca de raízes (Figura 6), a cultivar transgênica com glyphosate foi eficiente na absorção do Mn. Sendo assim, a raiz afetada pelo glyphosate supriu adequadamente com Mn as demais partes da planta, sem prejudicar a massa de matéria seca total, em que não houve efeito principal de cultivares (Tabela 3). Nesse caso, não ocorreu alteração no transporte do elemento por parte de complexos entre o glyphosate e o micronutriente Mn, conforme relatado por Eker et al. (2006) e Neumann et al. (2006).

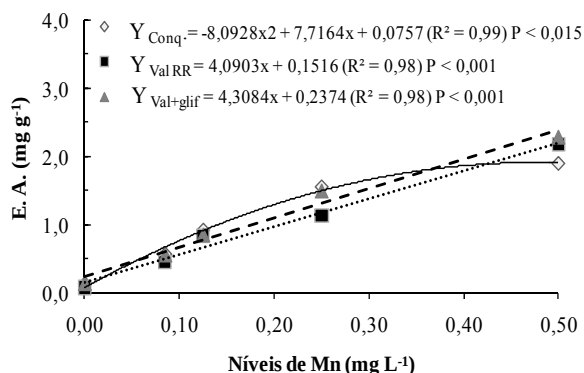


Figura 10. Eficiência de absorção das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

A relação copa/raiz da cultivar GM tratada com glyphosate foi significativamente maior em comparação com a cultivar convencional e GM não tratada com glyphosate, independente do nível de Mn na solução (Figura 11A). A causa do aumento da relação copa/raiz foi, principalmente, à menor produção de raiz pela cultivar transgênica sob efeito do glyphosate (Figura 6). Evidencia-se com isso o efeito negativo do glyphosate na produção do sistema radicular. A cultivar Valiosa RR sem glyphosate, independente do nível de Mn na solução, mostrou menor relação copa/raiz, fato que também pode ser explicado levando-se em consideração o sistema radicular (Figura 6).

Sobre o efeito dos níveis de Mn na relação copa/raiz das cultivares, o comportamento foi linear decrescente (Figura 11B). Segundo Ericsson et al. (1996) quando a disponibilidade de Mn é limitada menor proporção de assimilados é alocada para as raízes em relação a parte aérea. Assim, com menor nível de Mn na solução nutritiva, menor quantidade de raiz foi produzida, aumentando a relação. Resultados semelhantes foram encontrados por Lavres Junior (2007).

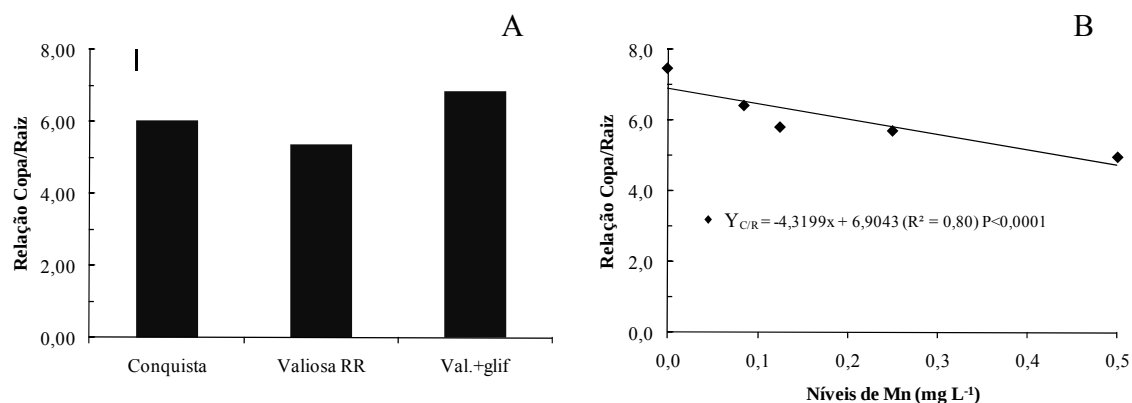


Figura 11. **A** - Relação copa/raiz das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. Barra vertical representa o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos. **B** - Relação copa/raiz das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

6.1.5. Percentagem de acúmulo de Mn

A percentagem de Mn acumulado nas folhas e raízes teve efeito isolado de níveis de Mn e cultivares. Nas hastes houve interação (Tabela6).

Tabela 6. Resumo da análise de variância para a percentagem de acúmulo de Mn nas folhas, hastes e raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em diferentes níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)		
		Folhas	Hastes	Raízes
Blocos	2	0,1368	0,0647	0,0301
Níveis de Mn	4	0,0001	0,0001	0,0001
Cultivares	2	0,0146	0,0001	0,0147
Níveis x Cv.	8	0,6259	0,0008	0,6186
Resíduo	42			
Total	59			
CV (%)		13,52	29,37	16.61

Nas folhas a cultivar Conquista acumulou 6,7% a mais Mn que a Valiosa RR. Entretanto, a cultivar Valiosa RR com glyphosate não se diferencia dos outros tratamentos (Figura 12A). Nas raízes ocorre o inverso, maior percentagem de Mn acumulado na Valiosa RR, com 5,8% superior que a Conquista (Figura 13A). Assim, em relação ao acúmulo total da planta, a transgenia alterou de forma inversa as percentagens de acúmulo dessas duas partes da planta.

Quanto ao glyphosate, pode-se dizer que o herbicida alterou a percentagem de acúmulo da raiz (Figura 13A), diminuindo em 5,6% o acúmulo de Mn na planta tratada com glyphosate em comparação a ela não tratada.

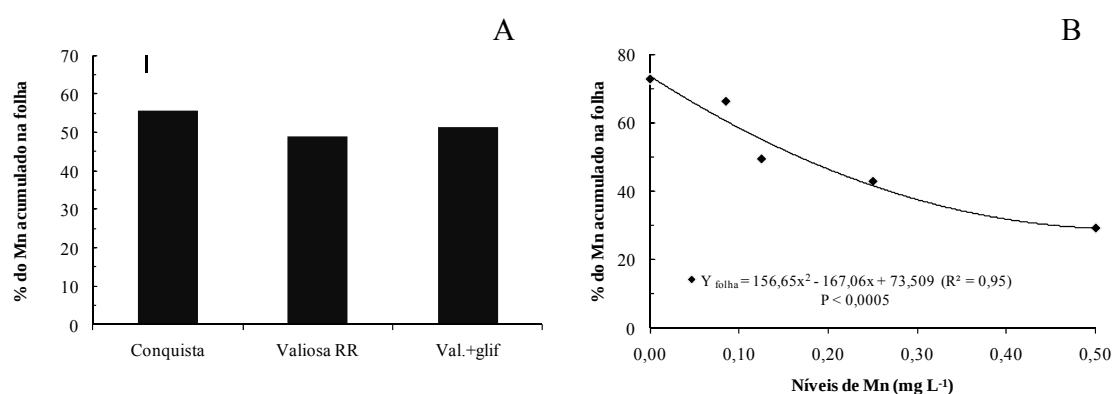


Figura 12. A – Percentagem de acúmulo de Mn nas folhas das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. Barra vertical representa o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos. **B** - Percentagem de acúmulo de Mn nas folhas das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Observou-se que com o aumento dos níveis de Mn na solução houve redução da percentagem de Mn acumulado nas folhas e acréscimo na percentagem de Mn na raiz (Figuras 12B e 13B). De acordo com Mukhopadhyay e Sharma (1991) estando em níveis adequados e elevados de manganês, a maior concentração de Mn ocorre nas raízes, principalmente nas finas. Ademais, relatam que, na parte aérea as folhas mais velhas contêm maior teor de Mn que as jovens. O fato da percentagem de Mn acumulado na raiz ser crescente

com o aumento do nível de Mn na solução pode ser embasado no relato de Munns et. al. (1963) em que são reconhecidos três compartimentos de Mn nas raízes. O primeiro refere-se à fração trocável, no apoplasto, permanecendo adsorvido às cargas negativas dos constituintes da parede celular. O segundo, denominado lábil, é o Mn que se encontra no citoplasma, enquanto o último, não-lábil, refere-se ao Mn depositado nos vacúolos. Dessa forma acredita-se que, por existir uma maior quantidade de Mn disponível, com o acréscimo de Mn na solução, as raízes absorveram e armazenaram o Mn no vacúolo. Esse mecanismo de armazenamento nos vacúolos pode funcionar com uma proteção para as plantas sob condições de alta concentração de Mn no meio. Edwards e Asher (1982, citado por LAVRES JUNIOR, 2007) observaram em plantas de soja, mecanismos de tolerância ao Mn, sendo que em um deles a planta controla a absorção radicular, não permitindo o transporte para as demais partes da planta.

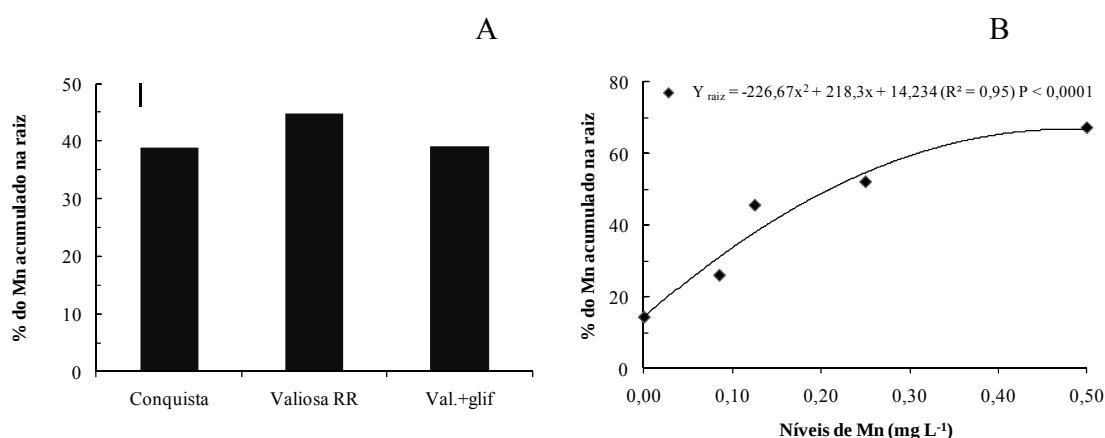


Figura 13. A – Percentagem de acúmulo de Mn nas raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar. Barra vertical representa o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos. **B** - Percentagem de acúmulo de Mn nas raízes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar em função dos níveis de Mn na solução nutritiva. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Na percentagem de acúmulo de Mn na haste (Figura 14), verificou-se em geral, que a cultivar Valiosa RR+glyphosate apresentou a maior percentagem de Mn, lembrando que o seu teor de Mn também foi maior (Figura 2A). Todos os tratamentos

apresentam comportamento linear decrescente, influenciados pela maior percentagem de Mn acumulado na raiz.

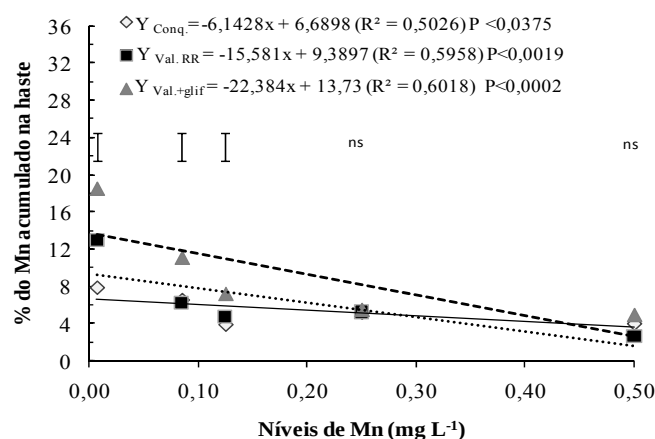


Figura 14. Interação da percentagem do Mn acumulado nas hastes das cultivares Conquista e Valiosa RR com e sem aplicação de glyphosate via foliar, com os níveis de Mn na solução nutritiva. Barras verticais representam o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos dentro de cada nível de Mn. ^{ns} não significativo. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

6.2. Experimento 2. Cinética de absorção do Mn

6.2.1. Teores e acúmulo de Mn e massa de matéria seca (MMS)

Observa-se pela Tabela 7, diferenças entre as doses de glyphosate somente nos teores radiculares de Mn. Pela Tabela 8 não se observa diferenças no acúmulo de Mn nas partes e total das plantas.

A produção de MMS da soja transgênica não foi alterada pelas diferentes doses de glyphosate (Tabela 9).

Tabela 7. Resumo da análise de variância para o teor de Mn nas folhas hastes e raízes da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)		
		Folhas	Hastes	Raízes
Blocos	6	0,50	0,56	0,39
Doses	2	0,86	0,29	0,04
Resíduo	12			
Total	20			
CV (%)		10,10	19,04	12,01

Tabela 8. Resumo da análise de variância para o acúmulo de Mn nas folhas hastes, raízes e total da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)			
		Folhas	Hastes	Raízes	Total
Blocos	6	0,29	0,39	0,64	0,44
Doses	2	0,68	0,22	0,50	0,46
Resíduo	12				
Total	20				
CV (%)		21,13	29,15	32,51	23,28

Tabela 9. Resumo da análise de variância para a massa de matéria seca (MMS) das folhas hastes, raízes e total da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	GL	Prob.>F (0,05)			
		Folhas	Hastes	Raízes	Total
Blocos	6	0,12	0,06	0,70	0,09
Doses	2	0,68	0,33	0,09	0,30
Resíduo	12				
Total	20				
CV (%)		14,80	17,72	25,24	14,36

O tempo da ação do glyphosate nas plantas foi considerado curto, seis dias (período referente ao intervalo entre a aplicação até a desmontagem do experimento de

cinética). Observou-se com isso, que poucas variáveis foram alteradas. Na Figura 15A verifica-se que os teores de Mn nas folhas e hastes não sofreram alterações pelo herbicida. O teor de Mn radicular, como visto na Tabela 7, foi alterado. Assim, as plantas que receberam 15 g ha⁻¹ (e.a.) do glyphosate, apresentaram teor de Mn 20% maior que aquelas que não foram tratadas com o glyphosate. Na Figura 15B estão ilustrados os resultados médios do acúmulo de Mn.

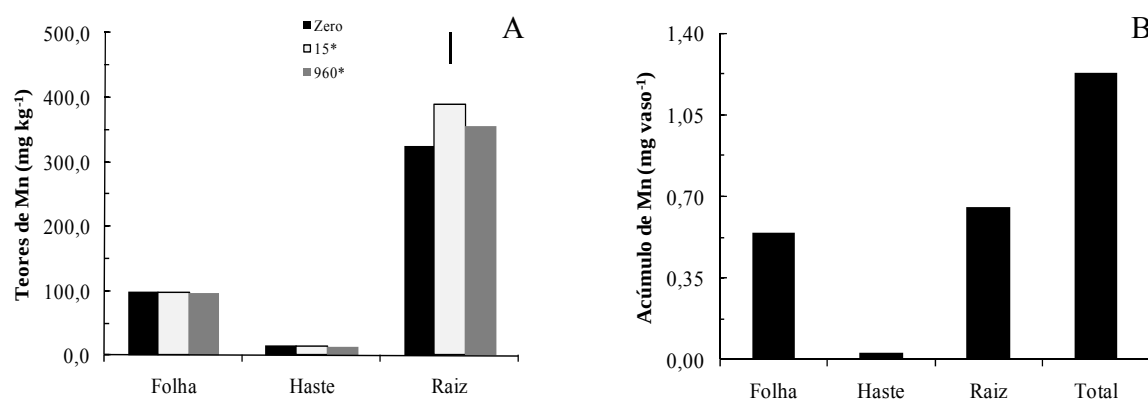


Figura 15. Teores (A) e acúmulos (B) de Mn nas partes das plantas da cultivar Valiosa RR sob diferentes doses de glyphosate aplicado via foliar. Barra vertical representa o valor do DMS pelo teste t, a 5% de probabilidade para a comparação dos tratamentos com glyphosate em cada parte da planta. * Dose do glyphosate em g ha⁻¹ do equivalente ácido. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Por existir aumento do teor de Mn nas raízes da soja tratadas com 15 g ha⁻¹ (e.a.) de glyphosate, poder-se-ia atribuir ao estímulo da sub-dose do herbicida no crescimento da raiz e, conseqüentemente, maior absorção do elemento em questão. O efeito de sub-dose de glyphosate estimulando a produção de matéria seca de plantas foi observado por Velini et al. (2008, 2006) que, trabalhando com doses de 2 a 720 g ha⁻¹ do e.a. de glyphosate, em algumas espécies de plantas, incluindo soja convencional, transgênica e milho, observaram aumento máximo da biomassa da parte aérea de 27,81% e 25,46%, para as doses de 14,2 e 22,6 g ha⁻¹ do e.a., respectivamente para a soja convencional e o milho. Entretanto os autores não encontraram estímulo na produção de matéria seca na soja transgênica, mesmo cultivando por mais dias (21 dias) após a aplicação das doses de glyphosate. Além disso, comentam que

os efeitos estimulatórios foram menos pronunciados nos sistemas radiculares das espécies avaliadas. O efeito da sub-dose de glyphosate no teor Mn deve estar relacionado a outro fator e não ao estímulo do glyphosate no crescimento do sistema radicular (Figura 16). No presente estudo, portanto, não se verificou qualquer estímulo da sub-dose do glyphosate na produção de MMS nas plantas da cultivar Valiosa RR.

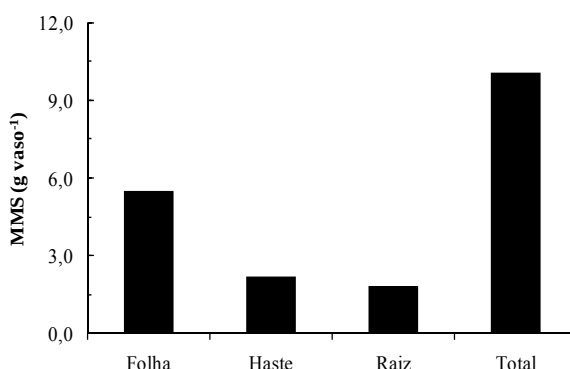


Figura 16. Massa de matéria seca (MMS) das partes e total das plantas da cultivar Valiosa RR sob diferentes doses de glyphosate aplicado via foliar. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

6.2.2. Parâmetros cinéticos K_m , $V_{máx}$ e $C_{mín}$

Com o aumento da dose de glyphosate não se observou um comportamento diferenciado da cultivar Valiosa RR quanto aos parâmetros K_m (que mede a afinidade entre o íon e o seu carregador), $V_{máx}$ e $C_{mín}$ (Tabela 10). Pela Tabela 10 foi conclusivo que o herbicida glyphosate, independente da dose utilizada, não modificou a absorção do Mn pela cultivar Valiosa RR. Na Tabela 11 estão representados os valores médios dos parâmetros cinéticos e na Tabela 12 apresentam-se as equações ajustadas para o cálculo dos parâmetros K_m e $V_{máx}$, com base na análise de Mn das amostras de solução nutritiva de exaustão. Porém, como forma ilustrativa, as curvas de depleção do Mn são apresentadas na Figura 17.

As implicações práticas dos valores de K_m e $V_{máx}$ são que, uma planta com menor K_m seria mais eficiente na absorção de determinado nutriente quando em baixa disponibilidade. Já uma planta que apresente maior $V_{máx}$ é mais eficiente na absorção numa

condição de elevada disponibilidade do nutriente. Em termos práticos, plantas com maior $V_{\text{máx}}$ e menor K_m são comparativamente superiores, tanto em alta quanto em baixa disponibilidade do nutriente na solução em que a planta esteja inserida. Dessa forma, no melhoramento genético procura-se selecionar genótipos mais eficientes na absorção de nutrientes, apresentando baixos valores de K_m e altos de $V_{\text{máx}}$ (NIELSEN e BARBER, 1978, citado por LAVRES JUNIOR, 2007).

Tabela 10. Resumo da análise de variância para os parâmetros cinéticos constante de Michaelis (K_m), Velocidade máxima de absorção de Mn ($V_{\text{máx}}$) e concentração mínima ($C_{\text{mín}}$) da cinética de absorção de Mn da cultivar Valiosa RR submetida a diferentes doses de glyphosate via foliar. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Causa da Variação	Prob.>F (0,05)		
	K_m	$V_{\text{máx}}$	$C_{\text{mín}}$
Blocos	0,93	0,85	0,07
Doses	0,69	0,83	0,07
CV (%)	37,05	56,22	24,85

Tabela 11. Valores médios dos parâmetros cinéticos K_m , Velocidade Máxima ($V_{\text{máx}}$) e concentração do $C_{\text{mín}}$ da cultivar Valiosa RR submetida a aplicações de glyphosate via foliar. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

K_m	$C_{\text{mín}}$	$V_{\text{máx}}$
----- $\mu\text{mol L}^{-1}$ -----		$\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$
3,04	1,81	0,36

Tabela 12. Equações ajustadas para as curvas de absorção de Mn (concentração versus tempo) no cálculo dos parâmetros cinéticos da absorção por soja transgênica sob efeito de diferentes doses de glyphosate. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Dose de Glyphosate g ha ⁻¹ (e. a.)	Equações	Modelo	
0	$Q = 14,0800 - 0,9150 \cdot t$	Linear	$R^2 = 0,969$
	$Q = 12,8945 \cdot e^{(t \cdot -0,0381)}$	Exponencial	$R^2 = 0,926$
15	$Q = 13,5310 - 0,4999 \cdot t$	Linear	$R^2 = 0,897$
	$Q = 11,4478 \cdot e^{(t \cdot -0,0232)}$	Exponencial	$R^2 = 0,995$
960	$Q = 13,6461 - 0,5593 \cdot t$	Linear	$R^2 = 0,921$
	$Q = 11,5385 \cdot e^{(t \cdot -0,0258)}$	Exponencial	$R^2 = 0,945$

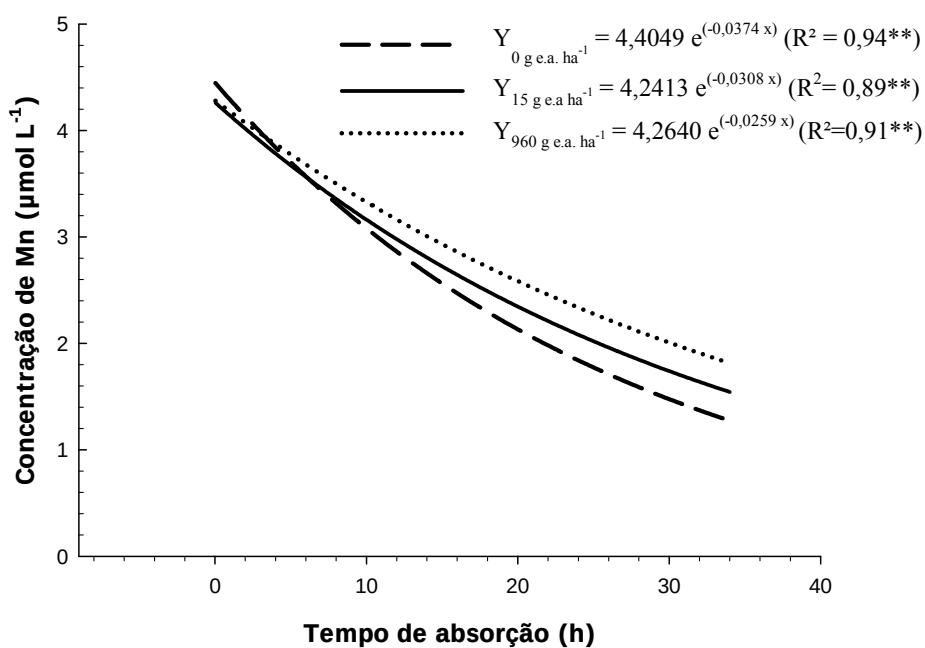


Figura 17. Curva de depleção de Mn pela cultivar Valiosa RR sob diferentes doses de glyphosate aplicado via foliar em função do tempo de exposição das plantas a uma solução nutritiva contendo Mn na concentração de $0,25 \text{ mg L}^{-1}$. **Significativo a 1% de probabilidade. Botucatu-SP - UNESP/FCA, 2009.

Lisboa et. al. (2009) estudando as mesmas cultivares do presente trabalho, Conquista e Valiosa RR, sob efeito de micro doses de glyphosate na solução nutritiva, simulando a exsudação pelas raízes, constataram que de modo geral, na média das cultivares, a Valiosa RR mostrou velocidade máxima de absorção maior que sua “quase isogênica” Conquista. Desta forma, a introdução do gene para resistência ao glyphosate, teoricamente, tornaria a Valiosa RR capaz de absorver manganês de modo mais rápido que a Conquista, uma vantagem em ambientes favoráveis. Por outro lado, não observaram efeitos significativos do herbicida na velocidade máxima de absorção de manganês pela soja, seja a cultivar transgênica ou não. É interessante lembrar que as doses utilizadas no trabalho de Lisboa et al. (2009) são muito maiores que as quantidades do herbicida que poderiam entrar em contato com as plantas por transferência via rizosfera, como levantado por KREMER et al. (2005).

Com relação ao K_m , a Valiosa RR mostrou valores, em média significativamente menores que a Conquista. Como já discutido, quanto menor o K_m maior a afinidade do carregador pelo íon, de modo que a planta fica mais eficiente na absorção do nutriente. Assim, Lisboa et al. (2009) constataram que a inserção do caráter RR fez com que a cultivar “quase isogênica” ficasse mais eficiente na absorção de Mn.

A concentração mínima, C_{min} (Tabela 11), corresponde à concentração de Mn na solução na qual o influxo se iguala ao efluxo (CLAASSEN e BARBER, 1974), ou seja, o influxo líquido é igual a zero. Numa determinada condição a planta que apresentou menor valor de C_{min} é mais eficiente na absorção de um nutriente. Contudo, no presente estudo não houve diferenças entre as concentrações mínimas.

7. CONCLUSÕES

De acordo com as condições em que foram realizados os estudos, pode-se concluir que:

- A inclusão do gene de resistência ao glyphosate não afeta a nutrição mangânica na cultivar Valiosa RR, bem como não interfere na produção de matéria seca da planta;
- Mesmo sendo responsável pela redução da massa de matéria seca radicular, o glyphosate não ocasiona efeito depressivo na absorção e no transporte de Mn na planta de soja geneticamente modificada. Além disso, as raízes afetadas são eficientes na absorção do Mn e suprem adequadamente as outras partes da planta;
- Os parâmetros cinéticos de absorção da cultivar Valiosa RR, K_m , $V_{máx.}$ e $C_{mín.}$ não são alterados pelo glyphosate aplicado via foliar.

8. REFERÊNCIAS LITERÁRIAS

- ANDRADE, G. J. M. de; LISBOA, I. P.; ROSOLEM, C. A.. Acúmulo de manganês em soja convencional e transgênica sob efeito do glifosato. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5., 2009; MERCOSOJA, 2009, Goiânia. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. Seção Trabalhos, t. 201. 1 CD-ROM.
- BARJA, B. C.; HERSZAGE, J.; AFONSO, M. S. Íons III – phosphonate complexes. **Polyhedron**, v. 20, n. 15-16, p. 1821-1830, Jun. 2001.
- BOTT, S.; TEFAMARIAM, T.; CANDAN, H.; CAKMAK, I.; ROMHELD, V.; NEUMANN, G. Glyphosate induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate- resistant soybean (*Glycine max* L.). **Plant Soil** v. 312, p. 185–194, 2008.
- BROCH, D.L.; RANNO, S.K. Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura da soja. In: **Tecnologia de produção de soja e milho 2008/2009**. Maracaju, MS, Brasil, Fundação MS; 2008, p.05-36.
- BURNELL, J.N. The biochemistry of manganese in plants. In: GRAHAM, R.D.; HANNAM, R.J.; UREN, N.C. (Ed). **Manganese in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.125-137, 1988.
- CLAASSEN, N.; BARBER, S. A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. **Plant Physiol.**, Bethesda, v. 54, p. 564-568, 1974.

- COLE, D.J. Mode of action of glyphosate-a literature analysis. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London, Butterworths, cap.5, p.48-74, 1985.
- CORREIA, N.M.; DURIGAN, J.C. Seletividade de diferentes herbicidas à base de glyphosate a soja RR. **Planta Daninha**, v.25, n.2, p.375 - 379, 2007.
- COUPLAND, D.; LUTMAN, P. Investigations into the movement of glyphosate from treated to adjacent untreated plants. **Ann. Appl. Biol.**, v. 101, p. 315-321, 1982.
- COUTINHO, C.F.B.; TANIMOTO, T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. **Pesticidas: recotóxico e meio ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 65-72, 2005.
- COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H. Complexos metálicos com o herbicida glifosato: Revisão. **Quím. Nova**, São Paulo, v.28 n.6, 2005.
- DECHEN, A. R.; HAAG, H. P.; CARMELLO, Q. A. de. Mecanismos de absorção e de transporte de micronutrientes. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da. **Micronutrientes na Agricultura**. Piracicaba. Potafos/CNPq, 1991.
- DECHEN, A. R. e NACHTIGALL, G. R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M.S. (Ed.) **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa. Soc. Bras. Ci. Sol. 2006. p.328-352.
- DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. Oxygen toxicity and herbicidal action; Secondary physiological effects of herbicides. In: Physiology of herbicide action. New Jersey: Prentice-Hall, cap.9, p.177-188, 1993.
- EKER, S.; OZTURK, L.; YAZICI, A.; ERENOGLU, B.; ROMHELD, V.; CAKMAK, I. Foliar-Applied Glyphosate Substantially Reduced Uptake and Transport of Iron and Manganese in Sunflower (*Helianthus annuus L.*) **Plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 10019-10025, 2006.
- EL-BAZ, F. K.; MAIER, P.; WISSEMEIER, A. H.; HORST, W. J. Uptake and distribution of manganese applied to leaves of *Vicia faba* (cv. Herzfeya) and *Zea mays* (cv. Regent) plants. **Zeitung Pflanzenernährung Bodenk.**, Braunschweig, v. 153, p. 279-282, 1990.
- ERICSSON, T.; RYTTER, L.; VAPAAVOURI, E. Physiology of carbon allocation in trees. **Biomass and Bioenergy**, v. 11, p. 115-127, 1996.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C.E. **Stage of soybean development**. Ames: Iowa States University of Sciences and Technology, 11p. 1977. (Special report 80).

FENG, P. C. C.; CHIU, T.; SAMMONS, R. D. Glyphosate efficacy is contributed by its tissue concentration and sensitivity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). **Pestic. Biochem. Physiol**, v.77, p. 83-91, 2003.

FERREIRA, E.A.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A.; OLIVEIRA, J.A.; VARGAS, L. Transporte do glyphosate em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta daninha** vol.24, n.2, p. 365-370, Viçosa, Abr./Jun. 2006.

FERREIRA, D. F. **Manual do sistema sisvar para análise estatística**. Lavras: UFLA, 2000. 63 p.

FOY, C. D. Physiological effects of hydrogen, aluminium and manganese toxicities in acid soils. In: ADMS, F. (Ed.). **Soil acidity and liming**. 2. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1984. p. 57-97. (Agronomy 12).

FRANZ, J.E.; MAO, M.K.; SIKORSKI, J.A. **Glyphosate: A unique global herbicide**; ACS Monograph 189; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

GAZZIERO, D. L. P. As plantas daninhas e soja resistente ao glyphosate no Brasil. In: SEMINÁRIO-TALLER IBEROAMERICANO-RESISTÊNCIA A HERBICIDAS Y CULTIVOS TRANSGÊNICOS, Colonia del Sacramento. Ponencias. La Estanzuela: INIA, 2005. CD-ROM.

GAZZIERO, D. L.P.; ADEGAS, F. S.; VOLL, E. **Indicações para o uso de glyphosate em soja transgênica**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 3 p. (Circular Técnica, 49).

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

GODOY, M. C. **Efeitos do glyphosate sobre o crescimento e absorção de fósforo pela soja**. 2007, 43 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

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

GRAHAM, R.D. Effect of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. **Advances in Botanical Research**, London, v. 10, p. 221-276, 1983.

HALL, J. L.; WILLIAMS, L. E. Transition metal transporters in plants. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 54, p. 2601-2613, 2003.

- HEENAN D.P., CARTER OG. Tolerance of soybean cultivars to manganese toxicity. **Crop Science**, v. 16, p. 391–391, 1976.
- HEENAN, D.P.; CAMPBELL, L.C. Transport and distribution of manganese in two cultivars of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) **Aust. J. Agric. Res.** v. 31, p. 943 – 949, 1980.
- HETHERINGTON, P. et al. The absorption, translocation and distribution of the herbicide glyphosate in maize expressing the CP-4 transgene. **J. Exp. Bot.**, v. 50, p. 1567-1576, 1998.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experimental Station. Circ. n.347, 1950.
- HOAGLAND, R.E. Effects of glyphosate on metabolism of phenolic compounds: VI. Effects of glyphosate and glyphosate metabolites on phenylalanine ammonia-lyase activity, growth and protein, chlorophyll, and anthocyanin levels in soybean (*Glycine max*) seedlings. **Weed Science**, Champaign, v. 28, p. 393-400, 1980.
- HORST, W. **Einfluss von Silizium auf die Mangan-Toleranz von Buschbohnen (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1976. Dissertation (Master's Degree)- Technische Universität Berlin, Berlin, 1976.
- HUBER, D. M. What about glyphosate-induced manganese deficiency? Fluid Journal, FALL 2007, p. 20-22. Disponível em: www.fluidfertilizer.com/PastArt/pdf/58P20-22.pdf. Acesso em: 18 mar. 2008.
- HUBER, D. M. Nutrição mineral e doenças de plantas. **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 109, p. 9, mar. 2005.
- ISAAA - INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRI-BIOTECH APPLICATIONS AGROBIOTECNOLOGIA. Resumo executivo - BRIEF 41 – **Situação global das culturas biotecnológicas/GM comercializadas: 2009**. Disponível em: www.isaaa.org. Acesso em: 14 jan. 2010.
- KABACHNIK, M.I.; MEDVED, T.Y.; DYATLOVA, N.M.; RUDOMINO, M.V. Organophosphorus complexes. **Russian Chem. Rev.**, v.43, p.733-744, 1974.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton: CRC Press, 1985. 315 p.
- KALIANNAN, P.; ALI, M. M. N.; SEETHALAKSHMI, T.; VENUVANALINGAM. P. Electronic structure and conformation of glyphosate : an ab initio MO study. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 618 (1-2), p. 117-125, Nov. 2002.

- KING, C.A.; PURCEL, L.C.; VORIES, E.D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 179-186, 2001.
- KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. Encarte técnico. **Informações Agronômicas**. Piracicaba, nº 118, p. 12-15, Jun. 2007.
- KITCHEN, L. M.; WITT, W. W.; RIECK, C. E. Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. **Weed Science**, Champaign, v. 29, p. 513-516, 1981.
- KREMER, R. J.; MEANS N. E.; KIM, S. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere micro-organism. **Intern J. Anal. Chem.**, v. 85, p. 1165-1174, 2005. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/sp2UserFiles/Place/36221500/cswq-0210-170287.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2008.
- LAVRES JUNIOR, J. Influência genotípica na absorção, utilização e na toxidez de manganês na soja. 2007, 88f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- LISBOA, I.P.; ROSOLEM, C.A.; OLIBONE, D.; ANDRADE, G.J.M. Absorção de manganês em soja função da aplicação de glifosato na solução nutritiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5., 2009; MERCOSOJA, 2009, Goiânia. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. Seção Trabalhos, t. 189.1 CD-ROM.
- LYDON, J.; DUKE, S.O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pesticide Science**, London, v. 25, p. 361-373, 1989.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira de Pesquisa Potassa, Fósforo, 1989. 201p.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Ceres, 2006. p.638.
- MALAVOLTA, E.; KLIEMANN, H.J. **Desordens nutricionais no cerrado**. Piracicaba: POTAFOS, 1985. 136p.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 3ª ed. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 485p.

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. Londres: Academic Press, 1995. 889 p.
- MARTINEZ, H.E.P. **O uso do cultivo hidropônico de plantas em pesquisa**. Viçosa. UFV, 2002. 61p.
- MATALLO, M.B.; FRANCO, D.A.S.; BLANCO, F.M.G.; CERDEIRA, A.L.; MOURA, M.A.M.; ALMEIDA, S.D.B.; da SILVA, D.F.P. Sintomas de fitotoxicidade em soja transgênica induzidos por diferentes formulações de glifosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5., 2009; MERCOSOJA, 2009, Goiânia. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. Seção Trabalhos, t. 92. CD-ROM.
- MUKHOPADHYAY, M.J. ; SHARMA, A. Manganese in cell metabolism of higher plants. **The Botanical Review**, v. 57, p. 117-149, 1991.
- MORRE, P.D. Mechanisms of micronutrient uptake by plants. In: MORTVEDT, J. J.; GIARDANO, P. M.; LINDSAY, W. L. (Eds.) **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p. 171-198.
- MUNNS, D. N. L.; JACOBSON, JOHNSON, C. M. Uptake and distribution of manganese in oat plants. II. A kinetic model. **Plant soil**, v. 19, p. 193-204, 1963.
- NEUMANN, G.; KOHLS, S.; LANDSBERG, E.; STOCK-OLIVEIRA SOUZA, K.; YAMADA, T.; RÖMHELD, V. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via rhizosphere. **Journal of Plant Diseases an Protection**, p. 936-969, 2006.
- OLIVEIRA JR., R.S.; DVORANEN, E.C.; CONSTANTIN, J.; CAVALIERI, S.D.; FRANCHINI, L.H.M.; RIOS, F.A.; BLAINSKI, E. Influência do glyphosate sobre a nodulação e o crescimento de cultivares de soja resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 26, n. 4, p. 831-843, 2008.
- PADGETTE, S.R.; REDDY, D.B.; BARRY, G.F.; EICHHOLTZ, D.E.; DELANNAY, X.; FUCHS, R.L.; KISHORE, G.M.; FRALEY, R.T. New weed control opportunities: development of soybeans with a roundup ready gene. In: DUKE, S.O (Ed.). **Herbicide resistente crops: agricultural, economic, environmental, regulatory and technological aspects**. Boca Raton, FL.: CRC Press, 1996, p. 53-84.
- PEREIRA, G. D.; BERTONI, J. C.; CARVALHO, J. G.; MORAIS, A. R. Doses e modo de adubação com manganês e seus efeitos na produção na cultura do arroz. **Re. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v. 25, p. 625-633, 2001.

RALLY DA SAFRA 2008. Disponível em:

<http://www.rallydasafra.com.br/rally2009/home/index.php> Acessado em: 15 jan. 2010.

RAYCHAUDHURI, S.S. The role of superoxide dismutase in combating oxidative stress in higher plants. **The Botanical Review**, v. 66, p. 89-98, 2000.

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

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

RICORDI, H. A.; TORNISIELO, L. V.; ALMEIDA, D. P. G. Transporte de ^{14}C -Glyphosate entre *Brachiaria brizantha* e mudas de café (*Coffea arábica*) e citros (*Citrus limonia* Osbeck). In: **I Simpósio Internacional Sobre Glyphosate**. Botucatu - Brasil. Outubro, 2007.

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

RÖMHELD, V. Dinâmica do glifosato na rizosfera das plantas-alvo e não alvo. **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 119, p. 3-5 Set. 2007.

RÖMHELD, V.; GULDNER, G.; YAMADA, T. G.; OZTURK, L.; CAKMAK, I.; NEUMANN, G. Relevance of glyphosate in the rhizosphere of non-target plants in orchards for plant health. In LI, C. J. et al (Eds). **Plant Nutrition for food security, human health and environment protection**, China. p. 476-477, 2005.

RÖMHELD, V. Aspectos fisiológicos dos sintomas de deficiência e toxicidade de micronutrientes e elementos tóxicos em plantas superiores. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da; RAIJ, B. VAN; ABREU, C. A. de. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal, 2001. p. 71 a 85.

RUIZ, H. A. Estimativa dos parâmetros cinéticos K_m e $V_{m\max}$ por uma aproximação gráfico-matemática. **Revista Ceres**, Viçosa-MG, v. 32, p. 79-84, 1985.

RUIZ, H. A., FERNANDES FILHO, E. I. Cinética: software para estimar as constantes $V_{m\max}$ e K_m da equação de Michaelis-Menten. In: Reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas, 20, 1992, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBCS, 1992. p. 124-5.

- SACRAMENTO, L. V. S. do, ROSOLEM, C. A. Bases do cálculo dos parâmetros cinéticos de absorção de potássio pela soja. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13, 1996. Águas de Lindóia. **Resumos...** (CD-ROM) Piracicaba, SBCS, 1996.
- SANTOS, J.B.; FERREIRA, E.A.; REIS, M.R.; SILVA, A.A.; FIALHO, C.M.T.; FREITA, M.A.M. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja Roundup Ready. **Planta daninha** v.25 n.1, p. 165 – 171, 2007.
- SCHAAF, G.; CATONI, E.; FITZ, M.; SCHWACKE, R.; SCHNEIDER, A.; WIRÉN, N. von; FROMMER, W. B. A putative role for the vacuolar calcium/ manganese proton antiporter AtCAX2 in heavy metal detoxification. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 4, p. 512-618, 2002.
- SEAGRI, **Soja contrabandeada deflagrou disseminação** - Valor Econômico (28/05/2009). Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/noticias.asp?qact=view¬id=18109>. Acesso em: 23 fev. 2010.
- SEDYIAMA, T.; TEIXEIRA, R.C.; BARROS, H.B. Cultivares. In: SEDYIAMA, T (Ed.) **Tecnologia de produção e uso da soja**. Londrina: Mercenas, 2009. p. 77-91.
- SHIKHA; SINGH D.P. Influence of glyphosate on photosynthetic properties of wild type and mutant strains of cyanobacterium *Anabaena doliolum*. **Current Science**, Bangalore, v. 86, p. 571-576, 2004.
- SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo integrado de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.
- SISTEMAS DE PRODUÇÃO 11. **Tecnologia de produção de soja – Região Central do Brasil - 2007**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste. 2006. 225p.
- Soja transgênica no Brasil: anotações sobre a legislação de plantio, comercialização e direitos da propriedade intelectual**. Agronline.com.br. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=248>>. Acesso em: 23 fev. 2010.
- SOUZA, P.I.M. de; MOREIRA, C.T.; DE FARIAS NETO, A.L.; ABUD,S.; NUNES JÚNIOR, J.; MONTEIRO, P.M.F.O.; DIAS, W.P.; DE ALMEIDA, L.A.; DE TOLEDO, J.F.F.; ASSUNÇÃO, M.S.; DI STEFANO, J.G.; ARANTES, N.E.; TOLEDO, R.M.DE.C.P. Cultivares de soja transgênicas da Embrapa indicadas para o sistema de produção da região do cerrado. **EMBRAPA SOJA**, 2006. Disponível em: www.acsoja.org.ar/mercsoja2006/trabajos_pdf/C80.pdf. Acesso em: 25 jul. 2009.

- SUBRAMANIAM, V.; HOGGARD; PATRICK, E. Metal complexes oh glyphosate. **J. of Agric. and Food Chem.**, v. 36, p. 1326-9, Nov/Dez. 1988.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719 p.
- TOLEDO, J. F. F. de. Soja BRS Valiosa RR. Disponível em: <http://www.redetec.org.br/inventabrasil/valiosa.htm>. Acesso em: 25 jul. 2009.
- TUFFI SANTOS, L. T. D.; TIBURCIO, S. A. R.; SANTOS, B. J.; FERREIRA, A. F.; OLIVEIRA, A. J.; BENTIVENHA, S.; FERREIRA, R. L. Exuadação radicular de glyphosate por Braquiária e seus efeitos em plantas de eucalipto. In: **I Simpósio Internacional Sobre Glyphosate**. Botucatu - Brasil. Outubro, 2007.
- TUFFI SANTOS, L.D.; FERREIRA, F.A.; BARROS, N.F.; SIQUEIRA, C.H.; SANTOS, I.C.; MACHADO, A.F.L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Plantas Daninhas**, Viçosa, v.23, n.1, p. 143-152, 2005.
- VELINI, E.D.; ALVES, E.; GODOY, M.C.; MESCHEDE, D.K.; SOUZA, R.T.; DUKE, S.O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Manag Sci**, v.64, p.489-496, 2008.
- VELINI, E.D.; ALVES, E.; CORREA, M.R.; CORREA, T.M.; QUEIROZ, C.A.S SOUZA, R.T. Sub-dose de Glyphosate estimulam o crescimento de plantas daninhas e cultivadas. In: Congresso Brasileiro de Plantas Daninhas, 25, 2006, Brasília. **Resumos...** SBCPD: Brasília, 2006, p. 210.
- WOOD, L. J.; MURRAY, B. J.; OKATAN, Y.; NOODÉN, L. D. Effect of petiole phloem distribution on starch and mineral distribution in senescing soybean leaves. **American Journal of Botany**, Bronx, v. 73, p.1377-1383, 1986.
- YAMADA, T.; CASTRO, P. R. C. Efeito do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. Encarte técnico. **Informações Agronômicas**. n. 119, 2007. .32p.
- ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JR, R. S.; HUBER, D. M.; CONSTANTIN, J.; CASTRO, C., OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA JR., A. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant Soil**. v. 328, p. 57-69, 2009.