Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Seletividade de herbicidas aplicados em pós-emergência da soja DAS44406-6
(Enlist E3™)

André Felipe Moreira Silva

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2018

André Felipe Moreira Silva
Engenheiro Agrônomo

Seletividade de herbicidas aplicados em pós-emergência da soja DAS44406-6 (Enlist E3™)

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO VICTORIA FILHO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Silva, André Felipe Moreira

Seletividade de herbicidas aplicados em pós-emergência da soja
DAS44406-6 (Enlist E3™) / André Felipe Moreira Silva - - Piracicaba, 2018.
61 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz".

1. Soja tolerante a herbicidas 2. 2,4-D colina 3. Glyphosate 4.
Glufosinate I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Vera Lúcia e José Cícero, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me colocado ao lado de pessoas que sempre me apoiaram e me ajudaram.

Aos meus pais José Cícero e Vera Lúcia, pelo amor e compreensão. Ao meu irmão Guilherme pelo apoio e amizade incondicional. A toda minha família, meus avós, tios e primos, nos quais sempre busquei apoio mesmo à distância.

Agradeço aos Professores que me auxiliaram e orientaram durante toda minha vida acadêmica, em especial ao meu orientador Prof. Ricardo Victoria Filho, pelos conhecimentos transmitidos, pelo apoio, confiança e amizade.

Agradeço a esta instituição de ensino e a seus colaboradores, às secretárias Luciane Ap. Lopes Toledo, Maria Célia Rodrigues e Elisabete Sarkis São João e aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal: Aparecido D. Serrano, Luiz Ferrari, Antônio Carlos Franco, Clayton Coratito.

Agradeço também ao grupo Pro Hort e todos os seus membros. De modo especial ao grande Lucas Rafael de Marco, pelo apoio na condução dos experimentos de campo, e claro pela amizade.

Não posso me esquecer de agradecer pelo apoio e amizade do Professores da UFPR (Palotina) Leandro e Alfredo. Prof. Leandro (Irmão) que foi meu primeiro orientador durante a graduação, e nunca deixou de ser até hoje. Alfredo, colega de pós-graduação, coorientador e amigo.

Agradeço também aos amigos da pós-graduação, orientados do Prof. Ricardo, Gustavo, Guilherme, Giovani, Lucas, Felipe, Henrique Placido, Leonardo, Luísa, Roberto Toledo e Fabrícia.

A todos os meus amigos e companheiros da pós-graduação e da República Paraná, José Guilherme, João Pedro, Marcos, Álvaro, Cristiano, Silas, Clóvis, Rafaela, Alfredo (novamente), pela amizade e grande apoio.

A minha namorada, amiga e companheira de pós-graduação Ana Ligia Giraldele por todo apoio, amor e carinho.

A toda equipe de Mogi-Mirim da estação experimental da Corteva Agriscience, em especial a Nelson Alvarenga e Felipe Ridolfo Lucio, por todo apoio recebido para condução deste trabalho.

Agradeço ainda a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

EPÍGRAFE

“Não são as ervas más que afogam a boa semente, e sim a negligência do lavrador”.

Confúcio

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
Referências	13
2. GLYPHOSATE NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E ÍNDICES DE CLOROFILA DA SOJA DAS44406-6 (ENLIST E3™) E SOJA GTS 40-3-2 (ROUNDUP READY™)	15
RESUMO	15
ABSTRACT	15
2.1. Introdução	16
2.2. Material e métodos	17
2.2.1. Delineamento e condições experimentais	17
2.2.2. Avaliação e coleta de dados	19
2.2.3. Análise estatística	20
2.3. Resultados	20
2.3.1. Sintomas de injúria e índices de clorofila	20
2.3.2. Desempenho agronômico	22
2.4. Discussão	23
2.5. Conclusões	25
Referências	25
3. GLUFOSINATE NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E ÍNDICES DE CLOROFILA DA SOJA DAS44406-6 (ENLIST E3™) E SOJA A5547-127 (LIBERTY LINK®)	31
RESUMO	31
ABSTRACT	31
3.1. Introdução	32
3.2. Material e métodos	33
3.2.1. Delineamento e condições experimentais	33
3.2.2. Avaliações e coleta de dados	35
3.2.3. Análise estatística	36
3.3. Resultados	36
3.3.1. Sintomas de injúria e índices de clorofila	36
3.3.2. Desempenho agronômico	39

3.4. Discussão	40
3.5. Conclusões	41
Referências	42
4. 2,4-D, ISOLADO E EM ASSOCIAÇÕES, NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E ÍNDICES DE CLOROFILA DA SOJA DAS44406-6 (ENLIST E3™)	45
RESUMO	45
ABSTRACT	45
4.1. Introdução	46
4.2. Material e métodos.....	47
4.2.1. Delineamento e condições experimentais.....	47
4.2.2. Avaliações e coleta de dados	49
4.2.3. Análise estatística	50
4.3. Resultados.....	50
4.3.1. Sintomas de injúria	50
4.3.2. Índices de clorofila	51
4.3.3. Desempenho agronômico	52
4.4. Discussão	53
4.5. Conclusão.....	55
Referências	55
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61

RESUMO

Seletividade de herbicidas aplicados em pós-emergência da soja DAS44406-6 (Enlist E3™)

Em 1998 foi aprovado no Brasil o evento GTS 40-3-2 (Roundup Ready™ - RR), que confere tolerância ao herbicida glyphosate em soja. Outra tecnologia de tolerância a herbicida disponível para soja é a Liberty Link® - LL (A2704-12 e A5547-127), que confere tolerância ao glufosinate. O evento DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) confere tolerância ao glyphosate, 2,4-D e glufosinate. Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos de glyphosate no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3 e RR, aplicado em diferentes estádios de desenvolvimento. Avaliar os efeitos de glufosinate no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3 e LL, aplicado em diferentes estádios de desenvolvimento. Avaliar efeitos do herbicida 2,4-D colina, isolado e em associação com glyphosate ou glufosinate, no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3, para a aplicação em pós-emergência (V4). Foram conduzidos três experimentos, repetidos nas safras 2016/17 e 2017/18, em Mogi-Mirim, SP. O experimento I constituído da aplicação de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹), os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2X4 (evento X estádio de desenvolvimento). Para o fator evento foram utilizados E3 e RR. Para estádio, controle (sem aplicação), V4, V6 e R2. O experimento II da aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹), os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2X4 (evento X estádio de desenvolvimento). Para o fator evento foram utilizados E3 e LL. Para estádio, os mesmo do experimento I. O experimento III foi constituído da aplicação 2,4-D, glyphosate e glufosinate no estádio V4 da soja E3. Foram avaliados os sintomas de injúria, índices de clorofila, e variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo. Não foram observadas reduções nos índices de clorofila e no desempenho agrônomo da soja. Constatou-se a seletividade equivalente de glyphosate para soja E3 e RR, independente do estádio de desenvolvimento. Assim como, a seletividade equivalente de glufosinate para soja E3 e LL, independente do estádio de desenvolvimento. Também constatou-se a seletividade de 2,4-D colina isolado ou em associações com glyphosate ou glufosinate em soja E3.

Palavras-chave: Soja tolerante a herbicidas; 2,4-D colina; Glyphosate; Glufosinate

ABSTRACT

Selectivity of herbicides applied in post-emergence of DAS44406-6 (Enlist E3™) soybean

In 1998 the GTS 40-3-2 (Roundup Ready™ - RR) event, which confers tolerance to glyphosate herbicide on soybean. Another herbicide tolerance technology available for soybeans is Liberty Link® - LL (A2704-12 and A5547-127), which confers tolerance to glufosinate. The DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) event confers tolerance glyphosate, 2,4-D and glufosinate. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of glyphosate on agronomic performance and chlorophyll indexes of E3 and RR soybean, applied at different stages of development. To evaluate the effects of glufosinate on the agronomic performance and chlorophyll indexes of E3 and LL soybean, applied at different stages of development. To evaluate the effects of 2,4-D (choline), isolated and in association with glyphosate or glufosinate, on agronomic performance and chlorophyll indexes of E3 soybean, for post-emergence (V4). Three experiments were carried out, repeated in the 2016/17 and 2017/18 seasons, in Mogi-Mirim, SP. The experiment I consisted of the application of glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹), treatments were arranged in factorial arrangement 2X4 (event X development stage). For the event factor were used E3 and RR. For stadium, control (without application), V4, V6 and R2. The experiment II consisted of the application of glufosinate (460 g e.a. ha⁻¹), treatments were arranged in factorial arrangement 2X4 (event X development stage). For the event factor were used E3 and LL. For stage, the same of experiment I. The experiment III was constituted of the application 2,4-D, glyphosate and glufosinate in the V4 stage of soybean E3. Were evaluated the crop injury, chlorophyll indexes, and variables related to agronomic performance. No reductions in chlorophyll indexes and agronomic performance of soybean were observed. It was found the equivalent of glyphosate selectivity to E3 and RR soybean, regardless of the development stage. As well as, the equivalent selectivity of glufosinate for E3 and LL soybean, regardless of development stage. Also the selectivity of 2,4-D isolated or in associations with glyphosate or glufosinate in E3 soybean.

Keywords: Herbicide-tolerant soybean; 2,4-D; Glyphosate; Glufosinate

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma leguminosa que começou a ser cultivada na China há cerca de cinco mil anos. É um dos principais produtos agrícolas nacionais, ocupando lugar de destaque no país, gerando importante fonte de capital. É uma das principais fontes de produção de óleos e proteínas vegetais para alimentação humana e animal. Constitui-se também em um dos produtos de maior importância na economia brasileira (Ito & Tanaka, 1993; Companhia Nacional de Abastecimento [CONAB] 2018).

As áreas ocupadas pelo cultivo de soja no Brasil, na safra 2017/18 atingiram 35,14 milhões de hectares (CONAB, 2018), dos quais 92,3%, com lavouras geneticamente modificadas (tolerantes a herbicidas ou resistentes a insetos, ou ambos) (Conselho de Informações sobre Biotecnologia [CIB] 2018).

É possível conferir tolerância a herbicidas para os cultivos, via alterações nos mesmos. Essas alterações podem ser feitas por meio de transferência de genes ou por seleção de mutações genéticas (Kniss, 2018). Atualmente no Brasil são 17 eventos transgênicos aprovados para o cultivo de soja, dos quais 15 conferem tolerância a herbicidas (CIB, 2018; International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications [ISAAA] 2018).

Em 1998 foi aprovado no Brasil o evento GTS 40-3-2, que confere tolerância ao herbicida glyphosate em soja, sob a marca comercial Roundup Ready™ (RR), desenvolvido pela Monsanto Company (CIB, 2018; ISAAA, 2018). Este foi o primeiro evento transgênico em soja aprovado no Brasil para plantio, consumo humano e animal.

O glyphosate é um herbicida de aplicação em pós-emergência, pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, classificado como não seletivo (seletivo somente para cultivos transgênicos tolerantes). Possui largo espectro de ação, tem ação sistêmica, é absorvido pelas folhas e tecidos verdes, e translocado, preferencialmente via floema, para os tecidos meristemáticos. Inibe a atividade da enzima EPSPs, que é catalisadora de reações de síntese de aminoácidos aromáticos essenciais à planta, como: fenilalanina, tirosina e triptofano (Galli & Montezuma, 2005; Oliveira Júnior, 2011).

Devido a possibilidade do uso do glyphosate, e eficácia deste herbicida, a soja RR foi amplamente adotada no Brasil e no mundo. Entretanto o uso continuado e sucessivo de um mesmo herbicida traz riscos, como a seleção de biótipos resistentes a herbicidas. No mundo até a presente data são relatadas 42 espécies de plantas daninhas com biótipos resistentes a glyphosate, das quais oito apresentam biótipos relatados com resistentes no Brasil (Heap, 2018).

Uma das formas para se prevenir a seleção de biótipos de plantas daninhas a herbicidas é rotação de herbicidas de diferentes mecanismos de ação. Neste contexto novas tecnologias que conferem tolerância a outros herbicidas tais como glufosinate, imidazolinonas, sulfoniluréias, mimetizadores de auxina, entre outros podem ser úteis na prevenção e controle de plantas daninhas resistentes a glyphosate (Green, 2012; Green, 2018).

Outra tecnologia de tolerância a herbicidas disponível para soja é a Liberty Link® - LL (eventos A2704-12 e A5547-127), desenvolvida pela Bayer CropScience, que confere tolerância ao glufosinate. Os eventos foram aprovados no Brasil em 2010 (CIB, 2018; ISAAA, 2018).

O glufosinate apresenta ação de contato, largo espectro de ação e mecanismo de ação inibidor a atividade da enzima glutamina sintetase o que resulta aumento de concentração de NH₂ na célula e consequente morte desta. O primeiro sintoma de fitotoxicidade é o amarelecimento das folhas e outros tecidos verdes da planta, seguido de murcha, necrose e morte das plantas suscetíveis (Oliveira Júnior, 2011).

O evento DAS44406-6 confere tolerância aos herbicidas glyphosate, 2,4-D e glufosinate, desenvolvido pela Dow AgroSciences sob a marca comercial Enlist E3™ - E3, aprovado no Brasil em 2015 (CIB, 2018; ISAAA, 2018).

O 2,4-D pertence ao grupo dos mimetizadores de auxina. Este grupo tem grande importância histórica, já que o 2,4-D foi o primeiro composto orgânico sintetizado industrialmente como herbicida seletivo. Estes herbicidas apresentam maior ação sobre plantas daninhas eudicotiledôneas, enquanto que a tolerância das gramíneas se dá por uma translocação limitada via floema e estruturas anatômicas (Oliveira Júnior, 2011; Peterson et al., 2016).

A tecnologia Enlist E3 apresenta potencial de uso para prevenção da seleção e manejo de plantas daninhas resistentes e tolerantes a herbicidas, sobretudo plantas eudicotiledôneas, pela possibilidade do uso de 2,4-D. Contudo alguns aspectos precisam ser elucidados sobre a seletividade de herbicidas em soja Enlist E3, tais como associação de herbicidas, estágio, entre outros.

Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos de glyphosate no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3 e RR, aplicado em diferentes estádios de desenvolvimento.

Avaliar os efeitos de glufosinate no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3 e LL, aplicado em diferentes estádios de desenvolvimento.

Avaliar efeitos do herbicida 2,4-D colina, isolado e em associação com glyphosate ou glufosinate, no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3, para a aplicação em pós-emergência (V4).

Referências

- Companhia Nacional de Abastecimento [CONAB] (2018). *Acompanhamento da safra brasileira de grãos*, safra 2017/18 - décimo segundo levantamento. Brasília, DF: CONAB.
- Conselho de Informações sobre Biotecnologia [CIB] (2018). Em 20 anos de transgênicos, agricultores são os mais beneficiados. Disponível em: <https://cib.org.br/20-anos-de-transgenicos/>. Acessado em: 16, nov. 2018.
- Galli, A.J.B., & Montezuma, M.C. (2005). *Glifosato*: alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura. ACADCOM.
- Green, J.M. (2012). The benefits of herbicide-resistant crops. *Pest Management Science*, 68(10), 1323-1331. doi:10.1002/ps.3374
- Green, J.M. (2018). The rise and future of glyphosate and glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 74(5), 1035-1039. doi:10.1002/ps.4462
- Heap, I. (2018). *The international survey of herbicide resistant weeds*. Disponível em: www.weedscience.org. Acessado em: 14, set. 2018.
- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications [ISAAA] (2018). GM Crop Events approved in Brazil. Disponível em: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>. Acessado em: 14, set. 2018.
- Ito, M.F., & Tanaka, M.A.S. (1993). *Soja*: principais doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides. Campinas, SP: Fundação Cargill.
- Kniss, A.R. (2018). Genetically engineered herbicide-resistant crops and herbicide-resistant weed evolution in the United States. *Weed Science*, 66(2), 260-273. doi:10.1017/wsc.2017.70
- Oliveira Júnior, R.S. (2011). Mecanismos de Ação dos Herbicidas. In R.S. Oliveira Júnior, J. Constantin, & M.H. Inoue (Eds.), *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas* (p. 141-192). Curitiba, PR: Ominipax.
- Peterson, M.A., McMaster, S.A., Riechers, D.E., Skelton, J., & Stahlman, P.W. (2016). 2,4-D past, present, and future: a review. *Weed Technology*, 30(2), 303-345. doi:10.1614/wt-d-15-00131.1

2. GLYPHOSATE NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E ÍNDICES DE CLOROFILA DA SOJA DAS44406-6 (ENLIST E3™) E SOJA GTS 40-3-2 (ROUNDUP READY™)

RESUMO

A soja GTS 40-3-2 (Roundup Ready™ - RR) apresenta tolerância ao herbicida glyphosate, devido ao gene *cp4epsps*. Enquanto que a soja DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) apresenta tolerância ao glyphosate devido ao gene *2mepsps*. Posiciona-se que a aplicação pode ser realizada até o estágio R2 de soja E3. Entretanto doses mais elevadas de glyphosate e aplicações tardias (V6–R2) podem afetar negativamente parâmetros fotossintéticos e teores de clorofila de soja RR. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos de glyphosate no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3 e RR, aplicado em diferentes estágios de desenvolvimento. O estudo foi conduzido no campo nas safras 2016/17 e 2017/18, constituído da aplicação de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹), os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2X4 (evento X estágio de desenvolvimento). Para o fator evento foram utilizados E3 e RR. Para estágio, controle (sem aplicação), V4, V6 e R2. Foi utilizado delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Foram avaliados sintomas de injúria, índices de clorofila e desempenho agrônomo. Foi efetuada análise de variância e teste F ($p < 0,05$). Para o fator estágio as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), enquanto o teste F foi conclusivo na comparação das médias do fator evento. De maneira geral, não foram observadas diferenças entre os teores de clorofila e desempenho agrônomo da soja E3 e RR, para aplicação de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹) em diferentes estágios fenológicos. Constata-se assim a seletividade equivalente de glyphosate para soja E3 e RR, independente do estágio de desenvolvimento.

Palavras-chave: Cultivos tolerantes a herbicidas; *Glycine max* (L.) Merrill; Inibidores da EPSPs; Transgênicos; *2mepsps*; *Cp4epsps*; Estágio de desenvolvimento

ABSTRACT

The soybean GTS 40-3-2 (Roundup Ready™ - RR) shows tolerance to the herbicide glyphosate because of the *cp4epsps* gene while soybean DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) shows tolerance to glyphosate because of the *2mepsps* gene. Application can be performed until the R2 stage of E3 soybean. However, higher rates of glyphosate and late applications (V6-R2) may negatively affect photosynthetic parameters and levels of chlorophyll of RR soybean. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of glyphosate on agronomic performance and chlorophyll indexes of E3 and RR soybean applied at different stages of development. The study was conducted in the field in the 2016/17 and 2017/18 seasons; it consisted of application of glyphosate (1.440 g a.e. ha⁻¹). The

treatments were arranged in a 2x4 factorial arrangement (event x development stage). For the event factor, E3 and RR were used. For the stages, control (without application), V4, V6 and R2 were used. A randomized block design with four replications was used. Crop injury, chlorophyll indexes and agronomic performance were evaluated. Analysis of variance and the F-test ($p < 0.05$) were used. For the development stage factor, the means were compared by Tukey's test ($p < 0.05$), while the F-test was conclusive as to comparing the means of the event factor. In general, no differences were found between chlorophyll indexes and agronomic performance of E3 and RR soybean, for application of glyphosate ($1.440 \text{ g a.e. ha}^{-1}$) at different phenological stages. It is thus verified the equivalent selectivity of glyphosate for E3 and RR soybean, regardless of the development stage.

Keywords: Herbicide tolerant crops; *Glycine max* (L.) Merrill; EPSPs inhibitors; Transgenic; *2mepsps*; *Cp4epsps*; Development stage

2.1. Introdução

A soja transgênica GTS 40-3-2 (Roundup Ready™ - RR) apresenta tolerância ao herbicida glyphosate, a qual foi desenvolvida através da introdução de gene (*cp4epsps*) que codifica uma enzima EPSPs insensível ao glyphosate, proveniente da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* estirpe CP4, de maneira que o glyphosate não tem a capacidade de bloquear a enzima EPSPs (Padgett et al., 1995).

A soja transgênica DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3), desenvolvida pela Dow AgroSciences e MS Technologies, apresenta tolerância aos herbicidas glyphosate, 2,4-D e glufosinate, respectivamente conferida pelas enzimas: duplo mutante EPSPs, aryloxyalkanoate dioxygenase-12 e phosphinothricin acetyltransferase (Lepping et al., 2013). A enzima duplo mutante EPSPs é codificada por gene EPSPs que sofreu dupla mutagenese (*2mepsps*), proveniente de milho (Herouet-Guicheney et al., 2009). A enzima aryloxyalkanoate dioxygenase-12 é codificada pelo gene *aad-12* proveniente da bactéria de solo *Delftia acidovorans* MC1 (Wright et al., 2010). Enquanto que a enzima phosphinothricin acetyltransferase é codificada pelo gene *pat*, proveniente de *Streptomyces viridochromogenes* (Herouet et al., 2005).

O glyphosate é um herbicida que apresenta eficácia no controle de plantas daninhas em pós-emergência, pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, classificado como não seletivo (seletivo somente para cultivos transgênicos tolerantes). Inibe a atividade da enzima EPSPs, que é catalisadora de reações de síntese de aminoácidos aromáticos essenciais à planta, como: fenilalanina, tirosina e triptofano. Apresenta largo espectro de ação,

tem ação sistêmica, é absorvido pelas folhas e tecidos verdes, e translocado, preferencialmente via floema, para os tecidos meristemáticos (Galli e Montezuma, 2005; Oliveira Júnior, 2011).

Ressalta-se que a aplicação de glyphosate pode ser realizada até o estágio R2 de soja E3 (Chahal et al., 2015). Entretanto doses mais elevadas de glyphosate e aplicações tardias (V6–R2) podem afetar negativamente parâmetros fotossintéticos e índices de clorofila de soja RR. Estes sintomas são caracterizados pelo *yellow flashing* (amarelecimento das folhas superiores) (Reddy et al., 2004; Zobiole et al., 2010a,b). Em soja E3 não são reportados reduções em parâmetros fotossintéticos e índices de clorofila para aplicação de glyphosate, Schryver et al. (2017) verificaram sintomas de injúria de no máximo 2% para aplicação de glyphosate (881,5 g e.a. ha⁻¹) em pós-emergência de soja E3.

Acredita-se que podem haver diferenças entre soja E3 e RR para a tolerância ao herbicida glyphosate, em aplicação em diferentes estádios fenológicos. Assim objetivou-se com o presente estudo, avaliar os efeitos de glyphosate no desempenho agrônômico e índices de clorofila de soja E3 e RR, aplicado em diferentes estádios fenológicos.

2.2. Material e métodos

2.2.1. Delineamento e condições experimentais

O presente estudo foi constituído por experimento realizado nas safras 2016/17 e 2017/18, no centro de pesquisa da Dow AgroSciences, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil. O clima da região é caracterizado como Cwa pela classificação climática de Köppen, ou seja, subtropical úmido com estiagem no inverno. A seguir (Figura 1) é apresentada a distribuição de precipitação e temperatura ao longo do período de condução em cada safra.

Figura 1. Representação da precipitação, temperatura máxima e mínima durante o período de condução do experimento safra 2016/17 e 2017/18.

Fonte: Estação Meteorológica Eletrônica (EST-051), Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Para a safra 2016/17 a semeadura ocorreu em 26 de dezembro de 2016, com colheita em 17 de abril de 2017. Para a safra 2017/18 a semeadura ocorreu em 19 dezembro de 2017, com colheita em 10 de abril de 2018. As parcelas foram mantidas livres da interferência das plantas daninhas, por meio de capinas manuais. A Tabela 1 apresenta a análise física e química do solo das áreas experimentais.

Foi aplicado o herbicida glyphosate dimetilamina (Glizmax[®] Prime, Dow AgroSciences Ind. Ltda, Brasil) na dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹. Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2X4 (evento X estágio de desenvolvimento). Para o fator evento foram utilizados E3 e RR. Para estágio, controle (sem aplicação), V4, V6 e R2. Foi utilizado delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. As unidades experimentais foram constituídas por parcelas de 5 m de comprimento e quatro linhas de soja, espaçadas a 0,5 m.

Tabela 1. Resultado da análise química do solo da área experimental, na profundidade de 0 a 20 cm. Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

pH (CaCl ₂)	H+Al	P (resina)	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
5,5	31,0	27,0	1,6	17,0	8,0	26,6	57,6	46
Argila			Silte			Areia		
47,6			3,1			49,3		

Unidades: Al, H+Al, K, Ca, Mg, SB e CTC (mmol_c dm⁻³); P (resina) (mg dm⁻³); V, argila, silte, areia (%).

Foram utilizados os cultivares Enlist E3 e BMX Turbo RR/STS, ambos apresentam ciclo de desenvolvimento indeterminado e grupo de maturação relativa (GMR) 5.7 e 5.8, respectivamente.

A aplicação de glyphosate foi em pós-emergência, de acordo com o fator estágio de desenvolvimento, com intervalo de catorze dias entre a aplicação de cada estágio, via pulverizador costal pressurizado a CO₂, com barra equipada com quatro pontas de pulverização (AI 110.015, TeeJet® Technologies South America, Brasil), a uma pressão de 40 psi, trabalhando a uma altura de 50 cm do alvo, e a uma velocidade de 1 m s⁻¹, atingindo uma faixa aplicada de 50 cm de largura por ponta de pulverização, e propiciando um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

2.2.2. Avaliação e coleta de dados

Foram avaliados os sintomas de injúria, através de avaliações visuais, em que foram atribuídas notas percentuais a cada unidade experimental (0 para ausência de injúrias, até 100% para morte das plantas), considerando-se neste caso sintomas significativamente visíveis nas plantas, de acordo com seu desenvolvimento (Velini et al., 1995). Esta avaliação foi realizada aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) do último estágio (R2).

Nestas mesmas datas de avaliação também foram realizadas avaliação do índice de clorofila, foram avaliadas 10 plantas, escolhidas ao acaso na área útil das parcelas. Para a safra 2016/17, o índice de clorofila foi mensurado pelo medidor portátil (SPAD-502, Konica Minolta, Inc., Japão). Este instrumento avalia, quantitativamente, a intensidade do verde da folha, via medição das transmissões de luz a 650 a 940 nm. Com estes dois valores, o equipamento calcula o índice SPAD (*Soil Plant Analysis Development*) que, normalmente, é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha (Uddling et al., 2007).

Para a safra 2017/18 foram mensurados os índices de clorofila tipo A, B e total, para tal foi utilizado medidor eletrônico de clorofila (clorofiLOG - CFL1030, Falker Automação Agrícola Ltda., Brasil). Este equipamento determina os índices de clorofila Falker (ICF)

(Barbieri Júnior et al., 2012). Sempre era avaliado o índice de clorofila em folha central de trifólio totalmente desenvolvido, do terço superior da planta.

Também foi realizada avaliação de variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo (altura de planta, número de vagens por planta, produtividade, e massa de 1.000 grãos). A altura e número de vagens foram avaliados por ocasião da maturação plena (estádio R8), ou seja, quando 95% das vagens apresentavam a coloração típica de vagem madura (Fehr et al., 1971), por meio da contagem manual do número de vagens presentes, em 10 plantas escolhidas aleatoriamente na área útil de cada parcela.

As plantas das duas linhas centrais foram colhidas manualmente (R8), descartando-se o primeiro e último metro da parcela, totalizando uma área colhida de 3 m². Em sequência as vagens foram debulhadas em trilhadora para experimentos, limpas e acondicionadas em sacos de papel, para realização de posteriores avaliações. Os grãos produzidos em cada parcela tiveram sua massa aferida e a umidade corrigida para 13%, a partir destes dados foi calculada a produtividade em kg ha⁻¹. Para a massa de 1.000 grãos foi determinada a massa média de duas sub-amostras de 100 grãos por parcela, os valores multiplicados por 10 e a umidade corrigida para 13%.

2.2.3. *Análise estatística*

Os dados foram analisados conforme Pimentel-Gomes e Garcia (2002). Foi efetuada análise de variância e teste F ($p < 0,05$). Para o fator estágio de desenvolvimento as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$), enquanto o teste F foi conclusivo na comparação das médias do fator evento.

2.3. Resultados

2.3.1. *Sintomas de injúria e índices de clorofila*

A análise dos dados não indicou diferenças entre os tratamentos, para os sintomas de injúria, foram observados sintomas de no máximo 1% decorrentes da aplicação de glyphosate em diferentes estádios nas plantas de soja (Tabela 2). Ressalta-se que para ambas as safras aos 28 DAA não foram observados quaisquer sintomas de injúria nas plantas de soja.

Tabela 2. Sintomas de injúria (%) das plantas de soja aos 7, 14 e 21 DAA de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹). Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Estádio	Safr 2016/17						Safr 2017/18					
	7 DAA		14 DAA		21 DAA		7 DAA		14 DAA		21 DAA	
	Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR
controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V6	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1
R2	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1
Média	0,4		0,1		0,1		0,5		0,3		0,3	
C.V. (%)	18,1		13,8		10,3		13,0		14,2		11,4	
F evento	1,333 ^{ns}		2,224 ^{ns}		4,200 ^{ns}		0,913 ^{ns}		7,875 ^{ns}		6,000 ^{ns}	
F estágio	5,444 ^{ns}		1,565 ^{ns}		1,711 ^{ns}		1,261 ^{ns}		2,917 ^{ns}		2,000 ^{ns}	
F evento x estágio	0,222 ^{ns}		0,247 ^{ns}		1,711 ^{ns}		0,304 ^{ns}		1,458 ^{ns}		2,000 ^{ns}	

DAA: dias após a aplicação do último estágio.

^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Foram observadas algumas diferenças entre os tratamentos para o índice de clorofila (índice SPAD) dos 7 aos 21 DAA, para a safra 2016/17, aos 28 DAA a análise dos dados não indicou diferença entre os tratamentos (Tabela 3). Dos 7 aos 21 DAA foram observadas algumas diferenças entre os tratamentos, com reduções nos índices de clorofila, sobretudo na comparação com o controle (sem aplicação), entretanto não foi possível verificar um padrão de resposta nestas reduções. Para índices de clorofila A, B e total (ICF), safra 2017/18, não foram verificadas quaisquer diferenças entre os níveis dos dois fatores, bem como não foi verificada interação significativa entre os fatores (Tabela 4).

Tabela 3. Índices de clorofila - IC (índice SPAD) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹). Safra 2016/17, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Estádio	IC 7 DAA				IC 14 DAA				IC 21 DAA				IC 28 DAA	
	Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR
controle	40,1	a	38,7	a	41,0	a	40,2	a	48,6	Aa	44,6	Ba	46,7	44,9
V4	36,6	a	34,0	b	36,6	b	35,3	b	45,8	Aab	41,9	Ba	46,5	45,1
V6	36,7	a	37,1	ab	36,8	b	37,6	ab	45,3	Aab	42,3	Aa	47,0	46,5
R2	36,5	a	38,6	a	36,8	b	40,1	a	41,9	Ab	43,7	Aa	47,1	46,5
Média	37,3		38,1		38,1		44,3		44,3		46,3		46,3	
C.V. (%)	5,4		5,0		5,0		5,8		5,8		5,0		5,0	
F evento	0,275 ^{ns}		0,575 ^{ns}		0,575 ^{ns}		6,411*		6,411*		1,873 ^{ns}		1,873 ^{ns}	
F estágio	5,582*		8,788*		8,788*		3,244*		3,244*		0,445 ^{ns}		0,445 ^{ns}	
F evento x estágio	2,063 ^{ns}		2,406 ^{ns}		2,406 ^{ns}		2,263*		2,263*		0,159 ^{ns}		0,159 ^{ns}	

DAA: dias após a aplicação do último estágio.

*Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$). ^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 4. Índice de clorofila A, B e total (ICF) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹). Safra 2017/18, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Estádio	ICF A		ICF B		ICF total		ICF A		ICF B		ICF total	
	Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR
7 DAA						14 DAA						
controle	27,9	29,7	7,1	7,0	35,0	36,7	30,1	29,2	8,4	8,7	38,5	37,8
V4	28,4	29,0	6,7	6,5	35,1	35,5	29,5	29,6	7,2	8,4	36,7	38,0
V6	27,2	29,4	6,1	6,5	33,3	35,9	28,4	28,7	8,2	8,0	36,6	36,7
R2	28,1	27,7	7,1	6,3	35,2	34,0	30,9	29,3	8,0	7,6	38,9	37,0
Média	28,4		6,7		35,1		29,5		8,1		37,5	
C.V. (%)	5,8		8,9		5,7		6,8		9,5		5,4	
F evento	3,376 ^{ns}		0,919 ^{ns}		1,515 ^{ns}		0,571 ^{ns}		0,629 ^{ns}		0,209 ^{ns}	
F estádio	0,517 ^{ns}		2,207 ^{ns}		0,715 ^{ns}		0,870 ^{ns}		1,681 ^{ns}		0,917 ^{ns}	
F evento x estádio	1,038 ^{ns}		1,261 ^{ns}		1,322 ^{ns}		0,399 ^{ns}		1,637 ^{ns}		0,897 ^{ns}	
Estádio	ICF A		ICF B		ICF total		ICF A		ICF B		ICF total	
	Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR
21 DAA						28 DAA						
controle	31,9	28,7	9,8	9,9	41,7	38,5	32,0	28,7	10,0	10,1	42,0	38,8
V4	30,6	30,1	8,6	10,3	39,2	40,4	30,7	30,2	8,7	10,3	39,4	40,5
V6	29,6	28,0	10,3	9,9	39,8	37,9	29,6	28,1	10,4	9,9	40,0	38,0
R2	33,3	30,2	8,8	8,9	42,1	39,1	33,6	30,5	8,8	9,2	42,5	39,7
Média	30,3		9,6		39,9		30,4		9,7		40,1	
C.V. (%)	12,1		11,8		8,6		11,9		11,4		8,3	
F evento	2,684 ^{ns}		0,895 ^{ns}		2,069 ^{ns}		2,781 ^{ns}		1,175 ^{ns}		2,096 ^{ns}	
F estádio	0,883 ^{ns}		1,789 ^{ns}		0,369 ^{ns}		1,029 ^{ns}		1,835 ^{ns}		0,534 ^{ns}	
F evento x estádio	0,267 ^{ns}		1,257 ^{ns}		1,419 ^{ns}		0,277 ^{ns}		1,356 ^{ns}		0,708 ^{ns}	

DAA: dias após a aplicação do último estádio.

^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

2.3.2. Desempenho agrônômico

Para as variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico (altura, número de vagens, produtividade e massa de 1,000 grãos) não foram verificadas diferenças entre os níveis dos fatores evento e estádio de desenvolvimento, assim como não foi observada interação significativa entre os fatores, para ambas as safras de condução do experimento (Tabela 5).

Tabela 5. Variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico de soja sob aplicação de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹). Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Safr 2016/17								
Estádio	Altura		NVP		PROD		MG	
	Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR
controle	84,3	87,8	48,0	45,5	3.317	3.540	160,1	157,0
V4	85,1	86,6	48,7	46,4	3.334	3.472	164,7	158,7
V6	83,9	86,2	50,5	46,5	3.301	3.581	164,0	158,4
R2	81,9	86,7	44,2	44,8	3.277	3.223	165,5	157,7
Média	85,3		46,8		3.381		160,8	
C.V. (%)	2,6		12,1		12,0		4,9	
F evento	15,072 ^{ns}		1,046 ^{ns}		1,043 ^{ns}		4,038 ^{ns}	
F estádio	1,089 ^{ns}		0,714 ^{ns}		0,382 ^{ns}		0,279 ^{ns}	
F evento x estádio	0,840 ^{ns}		0,239 ^{ns}		0,258 ^{ns}		0,119 ^{ns}	
Safr 2017/18								
Estádio	Altura		NVP		PROD		MG	
	Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	RR	E3	RR	E3	RR	E3	RR
controle	65,4	62,6	39,9	38,7	2.859	2.871	217,5	209,1
V4	63,6	62,0	39,8	38,7	2.822	2.705	214,0	227,2
V6	65,4	61,2	43,0	37,9	2.967	2.671	216,5	213,9
R2	62,0	60,4	38,8	38,6	2.855	2.667	220,8	216,9
Média	62,9		39,4		2.798		216,6	
C.V. (%)	2,3		7,6		9,8		5,9	
F evento	29,531 ^{ns}		3,188 ^{ns}		2,020 ^{ns}		0,005 ^{ns}	
F estádio	3,405 ^{ns}		0,504 ^{ns}		0,256 ^{ns}		0,753 ^{ns}	
F evento x estádio	1,019 ^{ns}		1,086 ^{ns}		0,352 ^{ns}		0,919 ^{ns}	

Altura (cm), NVP: número de vagens por planta, PROD: produtividade (kg ha⁻¹), MG: massa de 1.000 grãos (g).^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

2.4. Discussão

Schryver et al. (2017) verificaram sintomas de injúria em soja E3 de no máximo 2%, para aplicação em pós-emergência de glyphosate + 2,4-D colina (881,5 + 838,5 g e.a. ha⁻¹) em diferentes programas de manejo químico, bem como não observaram reduções em produtividade da soja decorrentes da aplicação dos herbicidas.

Fast et al. (2016) não observaram diferenças entre os teores de fibras, aminoácidos, ácidos graxos, mineiras, vitaminas, antinutrientes e bioativos de folhas e sementes de soja DAS44406-6, sob 4 aplicações sequenciais (15 dias antes do plantio, no plantio, V3-V4, R1-R2) de glyphosate + 2,4-D (1.230 + 1.170 g e.a. ha⁻¹), em comparação com o mesmo material sem aplicação e isolinha não geneticamente modificada (também sem aplicação).

Frene et al. (2018) observaram sintomas de injúria de até 23% em soja E3, para aplicação de glyphosate (1.440 – 2.280 g e.a. ha⁻¹) + 2,4-D (1.440 – 2.280 g e.a. ha⁻¹), em pós-

emergência (V3), aos 3 DAA, entretanto aos 21 DAA sintomas não ultrapassaram 5%. Destaca-se também que não foram observadas reduções em produtividade.

Kalsing et al. (2018) verificaram a tolerância de soja DAS44406-6 e DAS44406-6 x DAS81419-2 para a aplicação de 2,4-D + glyphosate (1.950 + 2.050 g e.a. ha⁻¹) para os estádios V3, V6 e R2. Foram observados sintomas de injúria de até 13% aos 7 DAA para o estádio V6, entretanto sem quaisquer reduções em produtividade.

Resultados estes semelhantes ao observado no presente trabalho para a aplicação em pós-emergência de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹) em diferentes estádios de desenvolvimento de soja E3. Também não foram observados sintomas significativos de injúria e reduções em produtividade e outras variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo de soja RR, decorrentes da aplicação de glyphosate, assim como não foram observadas diferenças para estas variáveis entre os eventos.

A tolerância a glyphosate em soja E3 é conferida pelo gene *2mepsps* (Lepping et al., 2013), enquanto que em soja RR é conferida pelo gene *cp4epsps* (Padgett et al., 1995). O gene *2mepsps* também está presente em algodão tolerante a glyphosate (GHB614 - GlyTol[®]) (Green, 2009). A aplicação sequencial, em quatro estádios, de glyphosate (1.300 g e.a. ha⁻¹) em algodão (*2mepsps* transformado) não provocou sintomas de injúria, bem como não reduziu a produtividade das plantas de algodão (Wallace et al., 2011). Outros estudos também relatam a tolerância de algodão (*2mepsps* transformado) para aplicação de glyphosate em pós-emergência (Irby et al., 2013; Reed et al., 2014). Estes resultados corroboram com o observado para aplicação de glyphosate em soja E3 no presente estudo.

Soja RR não apresentou sintomas de injúria para aplicação de glyphosate (960 g e.a. ha⁻¹), em pós-emergência (V4), bem como não foram observadas reduções em índices de clorofila, produtividade, altura e número de vagens por planta (Silva et al., 2016). Alonso et al. (2013) verificaram injúria de até 40% em plantas de soja RR, para a aplicação de glyphosate (1.200 + 1.200 g e.a. ha⁻¹) em pós-emergência (V1-V2 e V3-V4), entretanto estas injúrias não refletiram em redução na produtividade das plantas de soja.

Bohm et al. (2014) também não observaram reduções em produtividade da soja RR, para aplicação de glyphosate (960 g e.a. ha⁻¹) em pós-emergência (28 e 56 dias após o plantio). Estes resultados corroboram com o observado no presente estudo para soja RR.

Contudo, Albrecht et al. (2018) observaram sintomas de injúria e reduções nos teores de clorofila com o incremento das doses de glyphosate aplicadas em pós-emergência (V4) da soja RR, entretanto sem reduções em produtividade. Estas injúrias em soja tolerante ao

glyphosate são caracterizadas pelo *yellow flashing*, que pode ser definido como sintoma visual do efeito negativo do glyphosate sobre parâmetros fotossintéticos e teores de clorofila (Zobiolo et al., 2010a,b).

Outros estudos relatam, além do *yellow flashing*, reduções em produtividade da soja RR, sobretudo para doses elevadas de glyphosate (2.880 g e. a. ha⁻¹) e aplicações tardias (R2) (Albrecht et al., 2011; Albrecht et al., 2014a,b).

Ressalta-se que a aplicação de glyphosate em soja RR pode ser realizada até o início do estágio reprodutivo (R1) (Rodrigues e Almeida, 2018). Enquanto que aplicação de glyphosate pode ser realizada até o estágio R2 de soja Enlist E3 (Chahal et al., 2015). Mas, como já destacado, mesmo para a aplicação no estágio R2 de soja RR, não foram observadas reduções em produtividade. Foram observadas apenas algumas reduções nos índices de clorofila em comparação ao controle (sem aplicação), para ambos os eventos, contudo diferenças sutis, que foram verificadas apenas na primeira safra. Estes resultados estão de acordo com o verificado na literatura, para sintomas de injúria, de no máximo 1%.

2.5. Conclusões

De maneira geral, não foram observadas diferenças entre os teores de clorofila de soja Enlist E3 e soja Roundup Ready, para aplicação de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹) em pós-emergência em diferentes estádios de desenvolvimento.

Não foram observados efeitos da aplicação de glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹) em pós-emergência em diferentes estádios de desenvolvimento, no desempenho agrônômico de soja Enlist E3 e soja Roundup Ready.

Constata-se assim a seletividade equivalente de glyphosate para soja Enlist E3 e soja Roundup Ready, independente do estágio de desenvolvimento.

Referências

Albrecht, A.J.P., Albrecht, L.P., Krenchinski, F.H., Placido, H.F., Lorenzetti, J.B., Victoria Filho, R. & Barroso, A.A.M. (2014a). Behavior of RR soybeans subjected to different formulations and rates of glyphosate in the reproductive period. *Planta Daninha*, 32(4), 851-859. doi:10.1590/S0100-83582014000400020

- Albrecht, A.J.P., Albrecht, L.P., Barroso, A.A.M., Cesco, V.J.S., Krenchinski, F.H., Silva, A.F.M., ... Victoria Filho, R. (2018). Glyphosate tolerant soybean response to different management systems. *Journal of Agricultural Science*, 10(1), 204-216. doi:10.5539/jas.v10n1p204
- Albrecht, L.P., Albrecht, A.J.P., Braccini, A.L., Oliveira Júnior, R.S., Zobiolo, L.H.S., & Ávila, M.R. (2014b). The role of glyphosate in RR soybean production and seed quality. *Planta Daninha*, 32(2), 401-407. doi:10.1590/S0100-83582014000200018
- Albrecht, L.P., Barbosa, A.P., Silva, A.F.M., Mendes, M.A., Maraschi-Silva, L.M., & Albrecht, A.J.P. (2011). Performance of Roundup Ready soybean under glyphosate application at different stages. *Planta Daninha*, 29(3), 585-590. doi:10.1590/s0100-83582011000300012
- Alonso, D.G., Constantin, J., Oliveira Júnior, R.S., Santos, G., Dan, H.A., & Oliveira Neto, A.M. (2013). Selectivity of glyphosate alone or in mixtures for RR soybean in sequential applications. *Planta Daninha*, 31(1), 203-212. doi:10.1590/s0100-83582013000100022
- Barbieri Júnior, E., Rossiello, R.O.P., Silva, R.V.M.M., Ribeiro, R.C., & Morenz, M.J.F. (2012). A new chlorophyll meter to estimate chlorophyll contents in leaves of Tifton 85 bermudagrass. *Ciência Rural*, 42(12), 2242-2245. doi:10.1590/S0103-84782012005000109
- Bohm, G.M.B., Rombaldi, C.V., Genovese, M.I., Castilhos, D., Alves, B.J.R., & Rumjanek, N.G. (2014). Glyphosate effects on yield, nitrogen fixation, and seed quality in glyphosate-resistant soybean. *Crop Science*, 54(4), 1737-1743. doi:10.2135/cropsci2013.07.0470
- Chahal, P.S., Aulakh, J.S., Rosenbaum, K., & Jhala, A.J. (2015). Growth stage affects dose response of selected glyphosate-resistant weeds to premix of 2,4-D choline and glyphosate (Enlist Duo™ herbicide). *Journal of Agricultural Science*, 7(11), 1-10. doi:10.5539/jas.v7n11p1
- Fast, B.J., Galan, M.P., & Schafer, A.C. (2016). Event DAS-44406-6 soybean grown in Brazil is compositionally equivalent to non-transgenic soybean. *GM Crops & Food*, 7(2), 79-83. doi:10.1080/21645698.2016.1184815
- Fehr, W.R., Caviness, C.E., Burmood, D.T., & Penningt, J.S. (1971). Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L) Merrill. *Crop Science*, 11(6), 929-931. doi:10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x

- Frene, R.L., Simpson, D.M., Buchanan, M.B., Vega, E.T., Ravotti, M.E., & Valverde, P.P. (2018). Enlist E3™ soybean sensitivity and Enlist™ herbicide-based program control of Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis*). *Weed Technology*, 32(4), 1-8. doi:10.1017/wet.2018.29
- Galli, A.J.B., & Montezuma, M.C. (2005). *Glifosato: alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura*. ACADCOM.
- Green, J.M. (2009). Evolution of glyphosate-resistant crop technology. *Weed Science*, 57(1), 108-117. doi:10.1614/ws-08-030.1
- Herouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., ... Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41(2), 134-149. doi:10.1016/j.yrtph.2004.11.002
- Herouet-Guicheney, C., Rouquie, D., Freyssinet, M., Currier, T., Martone, A., Zhou, J., ... Rouan, D. (2009). Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54(2), 143-153. doi:10.1016/j.yrtph.2009.03.005
- Irby, J.T., Dodds, D.M., Reynolds, D.B., Main, C.L., Barber, L.T., Smith, K.L., & Stewart, A.M. (2013). Evaluation of GlyTol™ and GlyTol™ + LibertyLink® cotton in the mid-south. *Journal of Cotton Science*, 17(2), 131-139
- Kalsing, A., Lucio, F.R., Rossi, C.V.S., Rampazzo, P.E., Gonçalves, F.P., & Valeriano, R. (2018). Tolerance of DAS-444Ø6-6 and DAS-444Ø6-6 x DAS-81419-2 soybeans to 2,4-D and glyphosate in the Cerrado region of Brazil. *Planta Daninha*, 36, e018174410. doi:10.1590/s0100-83582018360100073
- Lepping, M.D., Herman, R.A., & Potts, B.L. (2013). Compositional equivalence of DAS-444Ø6-6 (AAD-12+2mEPSPS+PAT) herbicide-tolerant soybean and nontransgenic soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11180-11190. doi:10.1021/jf403775d
- Oliveira Júnior, R.S. (2011). Mecanismos de Ação dos Herbicidas. In R.S. Oliveira Júnior, J. Constantin, & M.H. Inoue (Eds.), *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas* (p. 141-192). Curitiba, PR: Ominipax.

- Padgett, S.R., Kolacz, K.H., Delannay, X., Re, D.B., LaVallee, B.J., Tinius, C.N., ... Kishore, G.M. (1995). Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science*, 35(5), 1451-1461. doi:10.2135/cropsci1995.0011183X003500050032x
- Pimentel-Gomes, F., & Garcia, C. H. (2002). *Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos*. Piracicaba SP: FEALQ.
- Reddy, K.N., Rimando, A.M., & Duke, S.O. (2004). Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5139-5143. doi:10.1021/jf049605v
- Reed, J.D., Keeling, J.W., & Dotray, P.A. (2014). Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) management in GlyTol[®] LibertyLink[®] cotton. *Weed Technology*, 28(4), 592-600. doi:10.1614/wt-d-14-00029.1
- Rodrigues, B.N., & Almeida, F.S. (2018). *Guia de herbicidas* (7 ed.). Londrina, PR: Edição dos autores.
- Schryver, M.G., Soltani, N., Hooker, D.C., Robinson, D.E., Tranel, P.J., & Sikkema, P.H. (2017). Control of glyphosate-resistant Common Waterhemp (*Amaranthus rudis*) in three new herbicide-resistant soybean varieties in Ontario. *Weed Technology*, 31(6), 828-837. doi:10.1017/wet.2017.81
- Silva, A.F.M., Albrecht, A.J.P., Albrecht, L.P., Victoria Filho, R., & Giovanelli, B.F. (2016). Application of post-emergence als inhibitor herbicides associated or not to glyphosate in RR/STS soybean. *Planta Daninha*, 34(4), 765-775. doi:10.1590/s0100-83582016340400017
- Tukey, J.W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 5(2), 99-114. doi:10.2307/3001913
- Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., & Pleijel, H. (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 91(1), 37-46. doi:10.1007/s11120-006-9077-5
- Velini, E.D., Osipe, R., & Gazziero, D.L.P. (1995). *Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas*. Londrina, PR: SBCPD.

- Wallace, R.D., Sosnoskie, L.M., Culpepper, A.S., York, A.C., Edmisten, K.L., Patterson, M.G., ... Pierson, J. (2011). Tolerance of GlyTol[®] and GlyTol[®] + LibertyLink[®] cotton to glyphosate and glufosinate in the southeastern US. *Journal of Cotton Science*, 15(1), 80–88.
- Wright, T.R., Shan, G.M., Walsh, T.A., Lira, J.M., Cui, C., Song, P., ... Zhang, Z.Y. (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(47), 20240-20245. doi:10.1073/pnas.1013154107
- Zobiole, L.H.S., Oliveira Júnior, R.S., Kremer, R.J., Constantin, J., Bonato, C.M., & Muniz, A.S. (2010a). Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(3), 182-193. doi:10.1016/j.pestbp.2010.01.004
- Zobiole, L.H.S., Kremer, R.J., Oliveira Júnior, R.S., & Constantin, J. (2010b). Glyphosate affects photosynthesis in first and second generation of glyphosate-resistant soybeans. *Plant and Soil*, 336(1-2), 251-265. doi:10.1007/s11104-010-0474-3

3. GLUFOSINATE NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E ÍNDICES DE CLOROFILA DA SOJA DAS44406-6 (ENLIST E3™) E SOJA A5547-127 (LIBERTY LINK®)

RESUMO

A soja A557-127 (Liberty Link® - LL) e DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) apresentam tolerância ao herbicida glufosinate, devido ao gene *pat*. Objetivou-se, avaliar os efeitos de glufosinate no desempenho agronômico e índices de clorofila de soja E3 e LL, aplicado em diferentes estádios de desenvolvimento. O estudo foi conduzido no campo nas safras 2016/17 e 2017/18, constituído da aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹), os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2X4 (evento X estágio de desenvolvimento). Para o fator evento foram utilizados E3 e LL. Para estágio, controle (sem aplicação), V4, V6 e R2. Foi utilizado delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Foram avaliados sintomas de injúria, índices de clorofila e desempenho agronômico. Foi efetuada análise de variância e teste F ($p < 0,05$). Para o fator estágio as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), enquanto o teste F foi conclusivo na comparação das médias para fator evento. De maneira geral, não foram observadas diferenças entre os índices de clorofila e desempenho agronômico de soja E3 e LL, para aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹) em diferentes estádios de desenvolvimento. Constata-se assim a seletividade equivalente de glufosinate para soja E3 e LL, independente do estágio de desenvolvimento.

Palavras-chave: Cultivos tolerantes a herbicidas; *Glycine max* (L.) Merrill; Inibidores da glutamina sintetase; Transgênicos; *Pat*; Estádio de desenvolvimento

ABSTRACT

The A557-127 (Liberty Link® - LL) and DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) soybean show tolerance to the herbicide glufosinate because of *pat* gene. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of glyphosate on agronomic performance and chlorophyll indexes of E3 and LL soybean applied at different stages of development. The study was conducted in the field in the 2016/17 and 2017/18 seasons; it consisted of application of glufosinate (460 g a.i. ha⁻¹), treatments were arranged in a 2x4 factorial arrangement (event x development stage). For the event factor, E3 and LL were used. For the stages, control (without application), V4, V6 and R2 were used. A randomized block design with four replications was used. Crop injury, chlorophyll indexes and agronomic performance were evaluated. Analysis of variance and the F-test ($p < 0.05$) were used. For the development stage factor, the means were compared by Tukey's test ($p < 0.05$), while the F-test was conclusive as to comparing the means of the event factor. In general, no differences were found between chlorophyll indexes and agronomic performance of E3 and LL soybean, for application of glufosinate (460

g a.i. ha⁻¹) at different development stages. It is thus verified the equivalent selectivity of glufosinate for E3 and LL soybean, regardless of the development stage.

Keywords: Herbicide tolerant crops; *Glycine max* (L.) Merrill; Glutamine sintetase inhibitors; Transgenic; *Pat*; Development stage

3.1. Introdução

A soja transgênica tolerante ao glufosinate (Liberty Link[®] - LL) foi desenvolvida através de tecnologia de DNA recombinante. A tolerância é conferida pela enzima phosphinothricin acetyltransferase, que é codificada pelo gene *pat* proveniente de *Streptomyces viridochromogenes* (Herouet et al., 2005).

A soja transgênica DAS44406-6 (Enlist E3[™] - E3), desenvolvida pela Dow AgroSciences e MS Technologies, apresenta tolerância aos herbicidas glyphosate, 2,4-D e glufosinate, respectivamente conferida pelas enzimas duplo mutante EPSPs, aryloxyalkanoate dioxygenase-12 e phosphinothricin acetyltransferase (Lepping et al., 2013). A enzima duplo mutante EPSPs é codificada por gene EPSPs que sofreu dupla mutagênese (*2mepsps*), proveniente de milho (Herouet-Guicheney et al., 2009). A enzima aryloxyalkanoate dioxygenase-12 é codificada pelo gene *aad-12* proveniente da bactéria de solo *Delftia acidovorans* MC1 (Wright et al., 2010).

O glufosinate é um herbicida de amplo espectro de ação e não seletivo (seletivo apenas para cultivos com o gene *pat*). Apresenta ação de contato e translocação limitada, os primeiros sintomas são o amarelecimento de folhas e outros tecidos verdes, seguido de murcha e morte da planta (Oliveira Júnior, 2011; Rodrigues & Almeida, 2018).

Landry et al. (2016) não observaram sintomas de injúria e reduções em produtividade de soja LL, para aplicação de glufosinate em pós-emergência, em diferentes estádios. Entretanto, Aulakh e Jhala (2015) observaram sintomas de injúria de até 15% para a aplicação de glufosinate (V2 sequencial V6) em soja LL. Em soja E3, Frene et al. (2018) observaram sintomas de injúria de até 10% para aplicação de glufosinate em pós-emergência (V3), entretanto sem reduções em produtividade. De modo semelhante, Craigmyle et al. (2013a,b) observaram sintomas de injúria de no máximo 5% para a aplicação de glufosinate, isolado e em associações, em soja E3, e não observaram reduções em produtividade.

Reddy et al. (2011) não observaram reduções no teor de clorofila de soja LL, para a aplicação de glufosinate em pós-emergência. Assim como Kita et al. (2009) também não observaram reduções nos índices de clorofila de soja tolerante a glufosinate (*pat* transformada). Contudo poucas são as informações sobre os efeitos de glufosinate nos índices de clorofila de soja E3 e LL.

Ressalta-se ainda que a aplicação de glufosinate pode ser realizada até o estágio R2 de soja E3 (Frene et al., 2018). Enquanto que para soja LL não é recomendada a aplicação de glufosinate a partir do início do florescimento (Jhala et al., 2017; Rodrigues & Almeida, 2018), logo, pode haver diferenças na seletividade de soja E3 e LL, para a aplicação de glufosinate em diferentes de desenvolvimento.

Assim, objetivou-se com o presente estudo, avaliar os efeitos de glufosinate no desempenho agrônômico e índices de clorofila de soja E3 e LL, aplicado em diferentes estádios de desenvolvimento.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Delineamento e condições experimentais

O presente estudo foi constituído por experimento realizado nas safras 2016/17 e 2017/18, no centro de pesquisa da Dow AgroSciences, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil. O clima da região é caracterizado como Cwa pela classificação climática de Köppen, ou seja, subtropical úmido com estiagem no inverno. A seguir (Figura 1) é apresentada a distribuição de precipitação e temperatura ao longo do período de condução em cada safra.

Figura 1. Representação da precipitação, temperatura máxima e mínima durante o período de condução do experimento, safra 2016/17 e 2017/18.

Fonte: Estação Meteorológica Eletrônica (EST-051), Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Para a safra 2016/17 a semeadura ocorreu em 26 de dezembro de 2016, com colheita em 17 de abril de 2017. Para a safra 2017/18 a semeadura ocorreu em 19 dezembro de 2017, com colheita em 10 de abril de 2018. As parcelas foram mantidas livres da interferência das plantas daninhas, por meio de capinas manuais. A Tabela 1 apresenta a análise física e química do solo das áreas experimentais.

Tabela 1. Resultado da análise química do solo da área experimental, na profundidade de 0 a 20 cm. Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

pH (CaCl ₂)	H+Al	P (resina)	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
5,5	31,0	27,0	1,6	17,0	8,0	26,6	57,6	46
Argila			Silte			Areia		
47,6			3,1			49,3		

Unidades: Al, H+Al, K, Ca, Mg, SB e CTC (mmolc dm⁻³); P (resina) (mg dm⁻³); V, argila, silte, areia (%).

Foi aplicado o herbicida glufosinate (Finale[®], Bayer CropScience, Brasil) na dose de 460 g i.a. ha⁻¹. Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2X4 (evento X estágio de desenvolvimento). Para o fator evento foram utilizados E3 e LL. Para estágio, controle (sem aplicação), V4, V6 e R2. Foi utilizado delineamento de blocos casualizados com quatro

repetições. As unidades experimentais foram constituídas por parcelas de 5 m de comprimento e quatro linhas de soja, espaçadas a 0,5 m.

Foram utilizados os cultivares Enlist E3 (ambas as safras), CZ 48B50 LL (safra 2016/17) e CZ 36B60 LL (safra 2017/18). O cultivar Enlist E3 apresenta ciclo de desenvolvimento indeterminado e grupo de maturação relativa 5.7. O cultivar CZ 48B50 LL apresenta ciclo determinado e grupo de maturação relativa 8.5. Enquanto que o cultivar CZ 36B60 LL apresenta ciclo semideterminado e grupo de maturação relativa 6.6.

A aplicação de glufosinate foi em pós-emergência, de acordo com o fator estágio de desenvolvimento, com intervalo de catorze dias entre a aplicação de cada estágio, via pulverizador costal pressurizado a CO₂, com barra equipada com quatro pontas de pulverização (AI 110.015, TeeJet® Technologies South America, Brasil), a uma pressão de 40 psi, trabalhando a uma altura de 50 cm do alvo, e a uma velocidade de 1 m s⁻¹, atingindo uma faixa aplicada de 50 cm de largura por ponta de pulverização, e propiciando um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

3.2.2. Avaliações e coleta de dados

Foram avaliados os sintomas de injúria, através de avaliações visuais, em que foram atribuídas notas percentuais a cada unidade experimental (0 para ausência de injúrias, até 100% para morte das plantas), considerando-se neste caso sintomas significativamente visíveis nas plantas, de acordo com seu desenvolvimento (Velini et al., 1995). Esta avaliação foi realizada aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) do último estágio (R2).

Nestas mesmas datas de avaliação também foram realizadas avaliação do índice de clorofila, foram avaliadas 10 plantas, escolhidas ao acaso na área útil das parcelas. Para a safra 2016/17, o índice de clorofila foi mensurado pelo medidor portátil (SPAD-502, Konica Minolta, Inc., Japão). Este instrumento avalia, quantitativamente, a intensidade do verde da folha, via medição das transmissões de luz a 650 a 940 nm. Com estes dois valores, o equipamento calcula o índice SPAD (*Soil Plant Analysis Development*) que, normalmente, é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha (Uddling et al., 2007).

Para a safra 2017/18 foram mensurados os índices de clorofila tipo A, B e total, para tal foi utilizado medidor eletrônico de clorofila (clorofiLOG - CFL1030, Falker Automação Agrícola Ltda., Brasil). Este equipamento determina os índices de clorofila Falker (ICF) (Barbieri Júnior et al., 2012). Sempre era avaliado o índice de clorofila em folha central de trifólio totalmente desenvolvido, do terço superior da planta.

Também foi realizada avaliação de variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo (altura de planta, número de vagens por planta, produtividade, e massa de 1.000 grãos). A altura e número de vagens foram avaliados por ocasião da maturação plena (estádio R8), ou seja, quando 95% das vagens apresentavam a coloração típica de vagem madura (Fehr et al., 1971), por meio da contagem manual do número de vagens presentes, em 10 plantas escolhidas aleatoriamente na área útil de cada parcela.

As plantas das duas linhas centrais foram colhidas manualmente (R8), descartando-se o primeiro e último metro da parcela, totalizando uma área colhida de 3 m². Em sequência as vagens foram debulhadas em trilhadora para experimentos, limpas com o auxílio de peneiras e acondicionadas em sacos de papel, para realização de posteriores avaliações. Os grãos produzidos em cada parcela tiveram sua massa aferida e a umidade corrigida para 13%, a partir destes dados foi calculada a produtividade em kg ha⁻¹. Para a massa de 1.000 grãos foi determinada a massa média de duas sub-amostras de 100 grãos por parcela, os valores multiplicados por 10 e a umidade corrigida para 13%.

3.2.3. *Análise estatística*

Os dados foram analisados conforme Pimentel-Gomes e Garcia (2002). Foi efetuada análise de variância e teste F ($p < 0,05$). Para o fator estágio de desenvolvimento as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$), enquanto o teste F foi conclusivo na comparação das médias do fator evento.

3.3. Resultados

3.3.1. *Sintomas de injúria e índices de clorofila*

Para os sintomas de injúria (safra 2016/17), aos 7 e 14 DAA, foram observadas diferenças apenas entre os níveis do fator estágio de desenvolvimento (Tabela 2). A aplicação de glufosinate no estágio R2 causou 3% de injúria nas plantas de soja E3, aos 7 e 14 DAA respectivamente, superior ao controle e estágio V4. Para a soja LL não foram verificadas quaisquer diferenças, assim como não foram observadas diferenças entre soja E3 e LL. Aos 21 e 28 DAA não foram observados quaisquer sintomas de injúria, o mesmo foi verificado para as quatro avaliações na safra 2017/18.

Tabela 2. Sintomas de injúria (%) das plantas de soja aos 7 e 14 DAA de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹). Safra 2016/17, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Estádio	Sintomas de injúria 7 DAA		Sintomas de injúria 14 DAA	
	Evento		Evento	
	E3	LL	E3	LL
controle	0 a	0 a	0 a	0 a
V4	0 a	0 a	0 a	0 a
V6	2 ab	0 a	2 ab	1 a
R2	3 b	2 a	3 b	2 a
Média	0,9		1,0	
C.V. (%)	28,5		25,0	
F _{evento}	1,534 ^{ns}		2,739 ^{ns}	
F _{estádio}	8,534*		10,043*	
F _{evento x estágio}	0,767 ^{ns}		1,116 ^{ns}	

DAA: dias após a aplicação do último estágio.

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$). ^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

A análise dos dados não indicou quaisquer diferenças para índices de clorofila (safra 2016/17), aos 7, 14, e 28 (Tabela 3). Não foram observadas diferenças entre os níveis dos fatores evento e estágio de desenvolvimento, assim como não foi verificada interação significativa entre os fatores. Foram observadas diferenças apenas aos 21 DAA (Tabela 3), em que para a aplicação de glufosinate em R2 verificou-se redução no índice de clorofila, mas apenas para a soja E3. Para soja LL não foram observadas diferenças, assim como não foram verificadas diferenças entre soja E3 e LL.

Para os índices de clorofila A, B e total (safra 2017/18) (Tabela 4) a análise dos dados não indicou quaisquer diferenças entre os níveis dos fatores evento e estágio de desenvolvimento, assim como não foi verificada interação significativa entre os fatores. Resultados estes de acordo com a ausência de sintomas de injúria decorrentes da aplicação de glufosinate para a safra 2017/18.

Tabela 3. Índices de clorofila - IC (índice SPAD) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹). Safra 2016/17, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Estádio	IC 7 DAA		IC 14 DAA		IC 21 DAA			IC 28 DAA		
	Evento		Evento		Evento			Evento		
	E3	LL	E3	LL	E3	LL		E3	LL	
controle	36,8	36,4	40,4	40,3	47,2	a	44,1	a	44,6	46,3
V4	38,6	36,3	35,9	35,9	44,3	ab	41,2	a	44,4	47,7
V6	39,4	39,9	36,1	38,1	44,5	ab	41,5	a	46,3	45,9
R2	38,8	36,6	38,2	39,8	40,4	b	41,9	a	46,3	48,0
Média	37,8		38,1		43,1			46,2		
C.V. (%)	6,6		6,9		5,6			4,5		
F evento	1,540 ^{ns}		0,933 ^{ns}		5,235 ^{ns}			4,545 ^{ns}		
F estádio	2,185 ^{ns}		4,512 ^{ns}		4,751*			0,986 ^{ns}		
F evento x estádio	0,626 ^{ns}		0,337 ^{ns}		1,823 ^{ns}			1,070 ^{ns}		

DAA: dias após a aplicação do último estádio.

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$). ^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).**Tabela 4.** Índice de clorofila A, B e total (ICF) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹). Safra 2017/18, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Estádio	ICF A		ICF B		ICF total		ICF A		ICF B		ICF total	
	Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL
7 DAA												
controle	27,9	29,8	7,4	7,1	35,3	36,9	30,3	29,4	8,3	8,4	38,6	37,9
V4	28,4	29,0	6,9	6,5	35,3	35,5	29,5	29,6	8,2	8,4	37,7	38,0
V6	28,4	29,6	6,4	6,5	34,8	36,1	28,4	28,9	8,6	8,1	36,8	37,0
R2	28,1	27,7	7,1	6,3	35,2	34,0	30,9	29,4	7,2	7,6	38,2	37,0
Média	28,6		6,8		35,4		29,6		8,1		37,6	
C.V. (%)	5,8		9,7		5,9		6,8		16,3		6,0	
F evento	1,978 ^{ns}		2,045 ^{ns}		0,448 ^{ns}		0,466 ^{ns}		0,076 ^{ns}		0,202 ^{ns}	
F estádio	0,696 ^{ns}		1,953 ^{ns}		0,663 ^{ns}		0,804 ^{ns}		0,866 ^{ns}		0,502 ^{ns}	
F evento x estádio	0,661 ^{ns}		0,636 ^{ns}		0,744 ^{ns}		0,445 ^{ns}		0,095 ^{ns}		0,214 ^{ns}	
Estádio	ICF A		ICF B		ICF total		ICF A		ICF B		ICF total	
	Evento		Evento		Evento		Evento		Evento		Evento	
	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL
21 DAA												
controle	32,0	29,3	10,0	10,1	42,0	39,4	32,0	29,3	10,0	10,1	42,0	39,4
V4	30,1	30,4	8,7	10,4	38,9	40,9	30,1	30,4	8,7	10,4	38,9	40,9
V6	29,6	28,1	10,7	9,9	40,0	38,0	29,6	28,1	10,7	9,9	40,0	38,0
R2	34,0	30,6	8,7	9,2	42,7	39,8	34,0	30,6	8,7	9,2	42,7	39,8
Média	30,5		9,7		40,2		30,5		9,7		40,2	
C.V. (%)	11,6		11,5		7,9		11,6		11,5		7,9	
F evento	2,183 ^{ns}		1,307 ^{ns}		1,532 ^{ns}		2,183 ^{ns}		1,307 ^{ns}		1,532 ^{ns}	
F estádio	1,286 ^{ns}		1,883 ^{ns}		0,772 ^{ns}		1,286 ^{ns}		1,883 ^{ns}		0,772 ^{ns}	
F evento x estádio	0,429 ^{ns}		1,343 ^{ns}		1,041 ^{ns}		0,429 ^{ns}		1,343 ^{ns}		1,041 ^{ns}	

DAA: dias após a aplicação do último estádio.

^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

3.3.2. Desempenho agrônômico

Não foram verificadas quaisquer diferenças entre soja E3 e LL, entre os estádios de desenvolvimento, bem como não foi verificada interação significativa, para produtividade e demais variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico para a safra 2016/17 (Tabela 5).

Para a safra 2017/18, assim como observado na primeira safra, não foram observadas diferenças entre os níveis dos dois fatores, bem como não observada interação significativa entre os fatores, para a variável produtividade. O mesmo observado para demais variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico, exceto para altura de plantas. Foram observadas diferenças para o fator estádio de desenvolvimento, em que para a aplicação de glufosinate em V6 verificou-se redução da altura das plantas de soja LL, inferior ao controle sem aplicação. Para soja E3 não foram verificadas diferenças para os estádios de aplicação. Ressalta-se que entre soja E3 e LL não foram observadas diferenças (Tabela 5).

Tabela 5. Variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico de soja sob aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹). Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Safra 2016/17										
Estádio	Altura		NVP		PROD		MG			
	Evento		Evento		Evento		Evento			
	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL		
controle	82,5	84,0	43,8	43,3	2.911	3.050	175,5	178,5		
V4	83,3	86,5	42,0	40,0	3.108	2.992	168,5	178,3		
V6	83,3	86,0	42,3	43,3	2.962	3.062	171,6	172,9		
R2	83,8	84,0	38,0	39,7	2.942	2.855	179,7	178,5		
Média	84,2		41,2		2.985		175,5			
C.V. (%)	3,0		7,5		9,3		6,7			
F evento	4,606 ^{ns}		0,422 ^{ns}		0,008 ^{ns}		0,614 ^{ns}			
F estádio	0,669 ^{ns}		2,438 ^{ns}		0,433 ^{ns}		0,591 ^{ns}			
F evento x estádio	0,554 ^{ns}		1,263 ^{ns}		0,438 ^{ns}		0,324 ^{ns}			
Safra 2017/18										
Estádio	Altura		NVP		PROD		MG			
	Evento		Evento		Evento		Evento			
	E3	LL	E3	LL	E3	LL	E3	LL		
controle	69,1	a	68,7	a	35,2	35,3	2.841	2.822	205,3	206,8
V4	67,8	a	67,9	ab	35,6	39,4	2.602	2.836	215,1	216,4
V6	65,8	a	64,6	b	35,7	36,0	2.782	2.599	212,2	212,5
R2	66,0	a	68,2	a	38,4	36,3	2.615	2.822	211,3	207,5
Média	67,2		36,5		2.740		210,9			
C.V. (%)	2,7		5,9		16,5		5,7			
F evento	0,008 ^{ns}		0,479 ^{ns}		0,143 ^{ns}		0,001 ^{ns}			
F estádio	5,363*		2,153 ^{ns}		0,153 ^{ns}		0,929 ^{ns}			
F evento x estádio	1,473 ^{ns}		2,423 ^{ns}		0,386 ^{ns}		0,083 ^{ns}			

Altura (cm), NVP: número de vagens por planta, PROD: produtividade (kg ha⁻¹), MG: massa de 1.000 grãos (g).

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$). ^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

3.4. Discussão

Frene et al. (2018) observaram em soja E3 sintomas de injúria de até 10% para aplicação de glufosinate (600 g i.a. ha⁻¹) em pós-emergência (V3), entretanto sem reduções em produtividade. Miller e Norsworthy (2016) não verificaram sintomas significativos de injúria para aplicação de glufosinate (594 g i.a. ha⁻¹) + 2,4-D colina + glyphosate em pós-emergência (V6), constatando a seletividade desta associação para soja E3.

A tolerância da soja E3 para glufosinate também foi destacada por Craigmyle et al. (2013a,b), com sintomas de injúria de no máximo 5%, para aplicações nos estádios V2 a V7, R1 e R2. Resultados estes de acordo com o observado para soja Enlist E3 no presente estudo, em que além de não serem verificadas reduções em produtividade, foram observados sintomas de injúria em apenas uma safra e de no máximo 3%, para aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹) até o estágio R2 de soja E3.

Em soja LL, Aulakh e Jhala (2015) observaram sintomas de injúria de até 15% para a aplicação de glufosinate (740 g i.a. ha⁻¹) no estágio V2, com aplicação sequencial em V6 na dose 593 g i.a. ha⁻¹. Beyers et al. (2002) observaram sintomas de até 21% para aplicação de glufosinate em associações.

Entretanto outros estudos não relatam sintomas de injúria e reduções em produtividade para a aplicação de glufosinate (VC ao final do estágio vegetativo) em soja LL (Chahal & Jhala, 2015; Landry et al., 2016; Barnes et al., 2017; Jhala et al., 2017). Resultados que corroboram com o observado para aplicação de glufosinate até o estágio R2 da soja LL no presente estudo.

Destaca-se também que no presente estudo não foram observadas reduções nos índices de clorofila para aplicação de glufosinate em soja LL para ambas as safras de condução. Enquanto que para soja E3 foi verificada redução apenas em uma avaliação para a safra 2016/17, nas demais avaliações de ambas safras não foram verificadas reduções. De modo semelhante ao observado por Kita et al. (2009), em que soja tolerante a glufosinate (*pat* transformada) não teve reduções nos índices de clorofila (índice SPAD) para a aplicação de glufosinate.

Informações acerca dos índices de clorofila em soja (*pat* transformada), E3 ou LL, são escassas. Reddy et al. (2011) não verificaram redução no teor de clorofila da soja LL para aplicação de glufosinate (450 + 450 g i.a. ha⁻¹) em pós-emergência (V3-V4 + V7-V8). No mesmo estudo foi observada injúria de 3%, sem reduções em produtividade da soja. Este é um dos poucos estudos na literatura que relata os efeitos de glufosinate em cultivares comerciais

de soja (*pat* transformada). Ressalta-se assim a importância dos resultados obtidos no presente estudo para soja E3 e LL.

Em outros cultivos transgênicos com tolerância a glufosinate, como por exemplo milho (*pat* transformado), não foram relatadas reduções nos índices de clorofila para aplicação de glufosinate (Silva et al., 2017; Krenchinski et al., 2018). Resultados estes de acordo com o verificado no presente estudo.

Neste estudo a soja E3 apresentou-se tolerante para a aplicação de glufosinate até o estágio R2. Resultado este esperado, uma vez que está de acordo com o estágio máximo de recomendação (R2) de aplicação do referido herbicida em soja E3 (Frene et al., 2018).

Enquanto que a aplicação de glufosinate é posicionada até o final do estágio vegetativo na soja LL (Jhala et al., 2017; Rodrigues & Almeida, 2018). Entretanto no presente estudo a soja LL apresentou-se tolerante para a aplicação de glufosinate até o estágio R2. Assim como observado por Schultz et al. (2015), em que soja LL também se apresentou tolerante para a aplicação de glufosinate até o estágio R2.

Rotação de herbicidas de diferentes mecanismos ação trata-se de importante ferramenta no manejo de plantas daninhas, sobretudo na prevenção da seleção de biótipos resistentes a herbicidas (Green, 2018; Heap & Duke, 2018). Assim, a introdução da soja E3 é interessante no manejo de plantas daninhas tolerantes e resistentes a glyphosate, por ser tolerante ao próprio glyphosate, 2,4-D e glufosinate, este último, destacada sua tolerância para aplicação até R2 neste estudo.

3.5. Conclusões

Não foram observadas diferenças entre os índices de clorofila de soja Enlist E3 e soja Liberty Link, para aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹) em pós-emergência em diferentes estádios de desenvolvimento.

Não foram observados efeitos da aplicação de glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹) em pós-emergência em diferentes estádios de desenvolvimento, no desempenho agrônomo de soja Enlist E3 e soja Liberty Link.

Constata-se assim a seletividade equivalente de glufosinate para soja Enlist E3 e soja Liberty Link, independente do estágio de desenvolvimento.

Referências

- Aulakh, J.S., & Jhala, A.J. (2015). Comparison of glufosinate-based herbicide programs for broad-spectrum weed control in glufosinate-resistant soybean. *Weed Technology*, 29(3), 419-430. doi:10.1614/wt-d-15-00014.1
- Barbieri Júnior, E., Rossiello, R.O.P, Silva, R.V.M.M., Ribeiro, R.C., & Morenz, M.F.J. (2012). A new chlorophyll meter to estimate chlorophyll contents in leaves of Tifton 85 bermudagrass. *Ciência Rural*, 42(12), 2242-2245. doi:10.1590/S0103-84782012005000109
- Barnes, E.R., Knezevic, S.Z., Sikkema, P.H., Lindquist, J.L., & Jhala, A.J. (2017). Control of glyphosate-resistant Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) in glufosinate-resistant soybean *Glycine max* (L.) Merr. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1445. doi:10.3389/fpls.2017.01455
- Beyers, J.T., Smeda, R.J., & Johnson, W.G. (2002). Weed management programs in glufosinate-resistant soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, 16(2), 267-273. doi:10.1614/0890-037x(2002)016[0267:wmpigr]2.0.co;2
- Chahal, P.S., & Jhala, A.J. (2015). Herbicide programs for control of glyphosate-resistant volunteer corn in glufosinate-resistant soybean. *Weed Technology*, 29(3), 431-443. doi:10.1614/wt-d-15-00001.1
- Craigmyle, B.D., Ellis, J.M., & Bradley, K.W. (2013a). Influence of herbicide programs on weed management in soybean with resistance to glufosinate and 2,4-D. *Weed Technology*, 27(1), 78-84. doi:10.1614/wt-d-12-00099.1
- Craigmyle, B.D., Ellis, J.M., & Bradley, K.W. (2013b). Influence of weed height and glufosinate plus 2,4-D combinations on weed control in soybean with resistance to 2,4-D. *Weed Technology*, 27(2), 271-280. doi:10.1644/wt-d-12-00100.1
- Fehr, W.R., Caviness, C.E., Burmood, D.T., & Penningt, J.S. (1971). Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L) Merrill. *Crop Science*, 11(6), 929-931. doi:10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x
- Frene, R.L., Simpson, D.M., Buchanan, M.B., Vega, E.T., Ravotti, M.E., & Valverde, P.P. (2018). Enlist E3™ soybean sensitivity and Enlist™ herbicide-based program control of Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis*). *Weed Technology*, 32(4), 416-423. doi:10.1017/wet.2018.29
- Green, J.M. (2018). The rise and future of glyphosate and glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 74(5), 1035-1039. doi:10.1002/ps.4462

- Heap, I., & Duke, S.O. (2018). Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide. *Pest Management Science*, 74(5), 1040-1049. doi:10.1002/ps.4760
- Herouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., ... Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41(2), 134-149. doi:10.1016/j.yrtph.2004.11.002
- Herouet-Guicheney, C., Rouquie, D., Freyssinet, M., Currier, T., Martone, A., Zhou, J., ... Rouan, D. (2009). Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54(2), 143-153. doi:10.1016/j.yrtph.2009.03.005
- Jhala, A.J., Sandell, L.D., Sarangi, D., Kruger, G.R., & Knezevic, S.Z. (2017). Control of glyphosate-resistant Common Waterhemp (*Amaranthus rudis*) in glufosinate-resistant soybean. *Weed Technology*, 31(1), 32-45. doi:10.1017/wet.2016.8
- Kita, Y., Hanafy, M.S., Deguchi, M., Hasegawa, H., Terakawa, T., Kitamura, K., & Ishimoto, M. (2009). Generation and characterization of herbicide-resistant soybean plants expressing novel phosphinothricin N-acetyltransferase genes. *Breeding Science*, 59(3), 245-251. doi:10.1270/jsbbs.59.245
- Krenchinski, F.H., Albrecht, A.J.P., Cesco, V.J.S., Rodrigues, D.M., Pereira, V.G.C., Albrecht, L.P., ... Victoria Filho, R. (2018). Post-emergent applications of isolated and combined herbicides on corn culture with *cp4-epsps* and *pat* genes. *Crop Protection*, 106, 156-162. doi:10.1016/j.cropro.2017.11.016
- Landry, R.L., Stephenson, D.O., & Woolam, B.C. (2016). Glufosinate rate and timing for control of glyphosate-resistant Rhizomatous Johnsongrass (*Sorghum halepense*) in glufosinate-resistant soybean. *International Journal of Agronomy*, 2016, 8040235. doi:10.1155/2016/8040235
- Lepping, M.D., Herman, R.A., & Potts, B.L. (2013). Compositional equivalence of DAS-44406-6 (AAD-12+2mEPSPS+PAT) herbicide-tolerant soybean and nontransgenic soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11180-11190. doi:10.1021/jf403775d
- Miller, M.R., & Norsworthy, J.K. (2016). Evaluation of herbicide programs for use in a 2,4-D-resistant soybean technology for control of glyphosate-resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Weed Technology*, 30(2), 366-376. doi:10.1614/wt-d-15-00129.1

- Oliveira Júnior, R.S. (2011). Mecanismos de Ação dos Herbicidas. In R.S. Oliveira Júnior, J. Constantin, & M.H. Inoue (Eds.), *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas* (p. 141-192). Curitiba, PR: Ominipax.
- Pimentel-Gomes, F., & Garcia, C.H. (2002). *Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos*. Piracicaba, SP: FEALQ.
- Reddy, K.N., Zablotowicz, R.M., Bellaloui, N., & Ding, W. (2011). Glufosinate effects on nitrogen nutrition, growth, yield, and seed composition in glufosinate-resistant and glufosinate-sensitive soybean. *International Journal of Agronomy*, 2011, 109280. doi: 10.1155/2011/109280
- Rodrigues, B.N., & Almeida, F.S. (2018). *Guia de herbicidas* (7 ed.). Londrina PR: Edição dos autores.
- Schultz, J.L., Myers, D.B., & Bradley, K.W. (2015). Influence of soybean seeding rate, row spacing, and herbicide programs on the control of resistant Waterhemp in glufosinate-resistant soybean. *Weed Technology*, 29(2), 169-176. doi:10.1614/wt-d-14-00071.1
- Silva, A.F.M., Albrecht, A.J.P., Giovanelli, B.F., Ghirardello, G.A., Damião, V.W., Albrecht, L.P., & Victoria Filho, R. (2017). Seletividade de herbicidas isolados e em associações para milho RR2/LL[®]. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 16(1), 60-66. doi:10.7824/rbh.v16i1.509
- Tukey, J.W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 5(2), 99-114. doi:10.2307/3001913
- Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., & Pleijel, H. (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 91(1), 37-46. doi:10.1007/s11120-006-9077-5
- Velini, D.E., Osipe, R., & Gazziero, D.L.P. (1995). *Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas*. Londrina PR: SBCPD.
- Wright, T.R., Shan, G.M., Walsh, T.A., Lira, J.M., Cui, C., Song, P., ... Zhang, Z.Y. (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(47), 20240-20245. doi:10.1073/pnas.1013154107

4. 2,4-D, ISOLADO E EM ASSOCIAÇÕES, NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E ÍNDICES DE CLOROFILA DA SOJA DAS44406-6 (ENLIST E3™)

RESUMO

A soja transgênica DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) apresenta tolerância aos herbicidas glyphosate, 2,4-D e glufosinate. Contudo mais informações acerca da seletividade de 2,4-D colina em soja E3, isolado ou em associação com glyphosate ou glufosinate, precisam ser geradas. Assim objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos do herbicida 2,4-D colina, isolado e em associação com glyphosate ou glufosinate, no desempenho agrônomo e índices de clorofila de soja E3, para a aplicação em pós-emergência (V4). O presente estudo foi conduzido nas safras 2016/17 e 2017/18. Os tratamentos foram constituídos pela aplicação dos herbicidas 2,4-D colina, glyphosate, glufosinate e associações em pós-emergência (V4) das plantas de soja E3. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Foram avaliados os sintomas de injúria nas plantas de soja, índices de clorofila, além de variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo (altura de plantas, número de vagens por planta, massa de mil grãos e produtividade). Os dados foram submetidos a análise de variância e teste F ($p < 0,05$), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para a primeira safra não foram observadas quaisquer diferenças entre os tratamentos, para a segunda foram observadas algumas diferenças para índice de clorofila e número de vagens por planta. Ressalta-se que para ambas não foram observadas reduções em produtividade devido a aplicação dos herbicidas. O herbicida 2,4-D colina, isolado ou em associação com glyphosate ou glufosinate, não reduziu os índices de clorofila e produtividade da soja E3, para aplicação em pós-emergência (V4). Constata-se assim a tolerância da soja Enlist E3 para aplicação, isolada ou em associações, herbicidas 2,4-D colina (975 g e.a. ha⁻¹), glyphosate (1.025 g e.a. ha⁻¹) e glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹).

Palavras-chave: *Aad-12*; Glyphosate; Glufosinate; Transgênicos; Sintomas de injúria; Manejo químico

ABSTRACT

The transgenic soybean DAS44406-6 (Enlist E3™ - E3) is tolerant to herbicides glyphosate, 2,4-D and glufosinate. However, more information is needed about selectivity of 2,4-D choline salt in E3 soybean, isolated or in association with glyphosate or glufosinate. The aim of this study was to evaluate the effects of the herbicide 2,4-D choline, alone and combined with glyphosate or glufosinate, on agronomic performance and chlorophyll indexes of E3 soybean after post-emergence application (V4). The treatments consisted of herbicides 2,4-D choline, glyphosate, glufosinate and associations, with application at post-emergence (V4) of E3 soybean plants. The study used a randomized block design

with four replications. Evaluations were made of crop injury, chlorophyll indexes, and variables relative to agronomic performance (plant height, number of pods per plant, 1000-grain weight and yield). Analysis of variance and the F-test ($p < 0.05$) were performed, and the means were compared by Tukey's test ($p < 0.05$). In 2016/17 season, there were no differences between the treatments, but some differences were found for chlorophyll indexes and number of pods per plant in the second season. It should be noted that herbicide application did not cause yield losses in either season. The herbicide 2,4-D choline, isolated or combined with glyphosate or glufosinate, did not reduce chlorophyll indexes and yield of E3 soybean after post-emergence (V4) application. Thus, Enlist E3 soybean was found to be tolerant to a single and tank mix application of 2,4-D choline (975 g a.e. ha⁻¹), glyphosate (1,025 g a.e. ha⁻¹) e glufosinate (460 g a.i. ha⁻¹).

Keywords: *Aad-12*; Glyphosate; Glufosinate; Transgenic; Crop injury; Chemical management

4.1. Introdução

A soja transgênica DAS44406-6 (Enlist E3TM - E3), desenvolvida pela Dow AgroSciences e MS Technologies, apresenta tolerância aos herbicidas glyphosate, 2,4-D e glufosinate, respectivamente conferida pelas enzimas duplo mutante EPSPs, aryloxyalkanoate dioxygenase-12 e phosphinothricin acetyltransferase (Lepping et al., 2013). A enzima duplo mutante EPSPs é codificada por gene EPSPs que sofreu dupla mutagênese (*2mepsps*), proveniente de milho (Herouet-Guicheney et al., 2009). A enzima aryloxyalkanoate dioxygenase-12 é codificada pelo gene *aad-12* proveniente da bactéria de solo *Delftia acidovorans* MC1 (Wright et al., 2010). Enquanto que a enzima phosphinothricin acetyltransferase é codificada pelo gene *pat*, proveniente de *Streptomyces viridochromogenes* (Herouet et al., 2005).

A enzima aryloxyalkanoate dioxygenase-12 degrada também outros herbicidas auxínicos como MCPA, triclopyr e fluroxypyr (Queiroz & Vidal, 2014). Importante ressaltar que esta enzima não possui afinidade catalítica com a auxina natural AIA (ácido indolacético), portanto não representa riscos para o metabolismo das plantas geneticamente modificadas (Griffin et al., 2013).

O herbicida 2,4-D pertence ao grupo dos mimetizadores de auxina. Este grupo tem grande importância histórica, já que o 2,4-D foi o primeiro composto orgânico sintetizado industrialmente como herbicida seletivo. Estes herbicidas apresentam maior ação sobre plantas daninhas eudicotiledôneas, enquanto que a tolerância das gramíneas se dá por uma

translocação limitada via floema e estruturas anatômicas (Oliveira Júnior, 2011, Peterson et al., 2016).

Além da soja E3, foi desenvolvida uma nova formulação de herbicida que possui em sua composição 2,4-D colina e glyphosate, 195 e 205 g e.a. L⁻¹, respectivamente. A formulação colina de 2,4-D apresenta menor potencial de deriva e menor volatilidade em relação às formulações éster (Sosnoskie et al., 2015) e dimetilamina (Kalsing et al., 2018). A aplicação pode ser realizada até o estágio R2 da soja E3, com dose máxima recomendada de 2185 g e.a. ha⁻¹ (Chahal et al., 2015). Ressalta-se ainda que a formulação 2,4-D + glyphosate apresentou estabilidade de armazenamento, redução de deriva e eficácia comparável para a aplicação de 2,4-D + glyphosate em mistura de tanque (Li et al., 2013). Outras formulações de 2,4-D, não estão autorizadas para uso em soja E3 (Peterson et al., 2016).

Soja E3 apresentou-se tolerante para aplicação de 2,4-D (Robinson et al., 2015). Assim como para aplicação de 2,4-D em associação com outros herbicidas (Miller & Norsworthy, 2016).

Mais informações acerca da seletividade de 2,4-D colina em soja E3, isolado ou em associação com glyphosate ou glufosinate, precisam ser geradas. Assim objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos do herbicida 2,4-D colina, isolado e em associação com glyphosate ou glufosinate, no desempenho agrônômico e índices de clorofila de soja E3, para a aplicação em pós-emergência (V4).

4.2. Material e métodos

4.2.1. Delineamento e condições experimentais

O presente estudo foi conduzido nas safras 2016/17 e 2017/18, no centro de pesquisa da Dow AgroSciences, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil. O clima da região é caracterizado como Cwa pela classificação climática de Köppen, ou seja, subtropical úmido com estiagem no inverno. A seguir (Figura 1) é apresentada a distribuição de precipitação e temperatura ao longo do período de condução de cada safra.

Figura 1. Representação da precipitação, temperatura máxima e mínima durante o período de condução do experimento, safra 2016/17 e 2017/18.

Fonte: Estação Meteorológica Eletrônica (EST-051), Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Para a safra 2016/17 a semeadura ocorreu em 26 de dezembro de 2016, com colheita em 17 de abril de 2017. Para a safra 2017/18 a semeadura ocorreu em 19 dezembro de 2017, com colheita em 10 de abril de 2018. Foi utilizado o cultivar Enlist E3, que apresenta ciclo indeterminado e grupo de maturação relativa 5.7. Com parcelas mantidas livres da interferência das plantas daninhas, por meio de capinas manuais. A seguir (Tabela 1) é apresentada a análise física e química do solo das áreas experimentais.

Tabela 1. Resultado da análise química do solo da área experimental, na profundidade de 0 a 20 cm. Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

pH (CaCl ₂)	H+Al	P (resina)	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
5,5	31,0	27,0	1,6	17,0	8,0	26,6	57,6	46
Argila			Silte			Areia		
47,6			3,1			49,3		

Unidades: Al, H+Al, K, Ca, Mg, SB e CTC (mmol_c dm⁻³); P (resina) (mg dm⁻³); V, argila, silte, areia (%).

Os tratamentos foram constituídos pela aplicação de herbicidas em pós-emergência (estádio de desenvolvimento V4) das plantas de soja (Tabela 2). O experimento foi instalado

delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. As unidades experimentais foram constituídas por parcelas de 5 m de comprimento e quatro linhas de soja, espaçadas a 0,5 m.

Tabela 2. Tratamentos compostos pela aplicação isolada ou associada de herbicidas em soja. Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Tratamentos ¹	Produto comercial	Doses (g e.a. ha ⁻¹) ²
1. controle (sem aplicação)	-	-
2. 2,4-D	Enlist™ Colex-D™	975
3. glyphosate	Glizmax® Prime	1.025
4. [2,4-D + glyphosate]	EnlistDuo™ Colex-D™	975 + 1.025
5. 2,4-D + glyphosate	Enlist™ Colex-D™ + Glizmax® Prime	975 + 1.025
6. 2,4-D + glufosinate	Enlist™ Colex-D™ + Finale®	975 + 460

¹ 2,4-D colina; glyphosate dimetilamina.

² Gramas de equivalente ácido por hectare. Doses em gramas de ingrediente ativo por hectare (g i.a. ha⁻¹), para glufosinate.

A aplicação dos tratamentos foi via pulverizador costal pressurizado a CO₂, com barra equipada com quatro pontas de pulverização (AI 110.015, TeeJet® Technologies South America, Brasil), a uma pressão de 40 psi, trabalhando a uma altura de 50 cm do alvo, e a uma velocidade de 1 m s⁻¹, atingindo uma faixa aplicada de 50 cm de largura por ponta de pulverização, e propiciando um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

4.2.2. Avaliações e coleta de dados

Foi avaliado os sintomas de injúria nas plantas de soja, através de avaliações visuais, em que foram atribuídas notas percentuais a cada unidade experimental (0 para ausência de injúrias, até 100% para morte das plantas), considerando-se neste caso sintomas significativamente visíveis nas plantas, de acordo com seu desenvolvimento (Velini et al., 1995). Esta avaliação foi realizada aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA).

Nestas mesmas datas de avaliação também foi realizada avaliação do índice de clorofila, foram avaliadas 10 plantas, escolhidas ao acaso na área útil das parcelas. Para a safra 2016/17 o índice de clorofila foi mensurado pelo medidor portátil (SPAD-502, Konica Minolta, Inc., Japão). Este instrumento avalia, quantitativamente, a intensidade do verde da folha, via medição das transmissões de luz a 650 a 940 nm. Com estes dois valores, o equipamento calcula o índice SPAD (*Soil Plant Analysis Development*) que, normalmente, é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha (Uddling et al., 2007).

Para a safra 2017/18 foram mensurados os índices de clorofila tipo A, B e total, para tal foi utilizado medidor eletrônico de clorofila (clorofiLOG - CFL1030, Falker Automação

Agrícola Ltda., Brasil). Este equipamento determina os índices de clorofila Falker (ICF) (Barbieri Júnior et al., 2012). Sempre era avaliado o índice de clorofila em folha central de trifólio totalmente desenvolvido, do terço superior da planta.

Também foi realizada avaliação de variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico (altura de planta, número de vagens por planta, produtividade, e massa de 1.000 grãos). A altura e número de vagens foram avaliados por ocasião da maturação plena (estádio R8), ou seja, quando 95% das vagens apresentavam a coloração típica de vagem madura (Fehr et al., 1971), por meio da contagem manual do número de vagens presentes, em 10 plantas escolhidas aleatoriamente na área útil de cada parcela.

As plantas das duas linhas centrais foram colhidas manualmente (R8), descartando-se o primeiro e último metro da parcela, totalizando uma área colhida de 2,7 m². Em sequência as vagens foram debulhadas em trilhadora para experimentos, limpas com o auxílio de peneiras e acondicionadas em sacos de papel, para realização de posteriores avaliações. Os grãos produzidos em cada parcela tiveram sua massa aferida e a umidade corrigida para 13%, a partir destes dados foi calculada a produtividade em kg ha⁻¹. Para a massa de 1.000 grãos foi determinada a massa de duas sub-amostras de 100 grãos por parcela, os valores multiplicados por 10 e a umidade corrigida para 13%.

4.2.3. *Análise estatística*

Os dados foram submetidos a análise de variância e teste F ($p < 0,05$), conforme Pimentel-Gomes & Garcia (2002). E as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$).

4.3. Resultados

4.3.1. *Sintomas de injúria*

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para os sintomas de injúria nas plantas de soja decorrentes da aplicação de 2,4-D colina, glyphosate e glufosinate em pós-emergência (V4) (Tabela 3). Valores de no máximo 3% foram observados, ressalta-se também que aos 28 DAA para a safra 2017/18 não foram observados quaisquer sintomas de injúria nas plantas de soja para a aplicação de herbicidas.

Tabela 3. Sintomas de injúria (%) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de herbicidas. Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Tratamentos ¹	Safr 2016/17				Safr 2017/18		
	Sintomas de injúria (DAA)						
	7	14	21	28	7	14	21
1. controle	0	0	0	0	0	0	0
2. 2,4-D	0	1	0	0	2	2	0
3. glyphosate	0	1	1	0	1	1	1
4. [2,4-D + glyphosate]	3	1	1	0	3	1	0
5. 2,4-D + glyphosate	2	2	1	1	3	2	1
6. 2,4-D + glufosinate	3	1	0	0	3	1	0
Média	1,3	1,0	0,5	0,2	2,0	1,2	0,3
DMS	3,5	3,5	2,6	1,4	4,0	3,3	2,0
CV (%)	32,9	40,4	33,5	19,6	32,9	35,2	26,8
F	3,375 ^{ns}	0,391 ^{ns}	0,529 ^{ns}	1,000 ^{ns}	1,901 ^{ns}	0,871 ^{ns}	1,086 ^{ns}

DAA: dias após a aplicação de herbicidas.

¹ 2,4-D colina (975 g e.a. ha⁻¹), glyphosate (1.025 g e.a. ha⁻¹), glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹).^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

4.3.2. Índices de clorofila

Para índice de clorofila (índice SPAD) não foram verificadas diferenças entre os tratamentos, para todas as avaliações (safra 2016/17) (Tabela 4). O mesmo foi observado para a safra 2017/18, aos 7 e 14 DAA para os índices de clorofila (ICF) A, B e total (Tabela 5).

Tabela 4. Índice de clorofila - IC (índice SPAD) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de herbicidas. Safra 2016/17, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Tratamentos ¹	IC (DAA)			
	7	14	21	28
1. controle	33,5	31,3	37,4	39,6
2. 2,4-D	32,5	32,5	39,0	37,0
3. glyphosate	32,7	32,8	37,3	39,5
4. [2,4-D + glyphosate]	33,3	34,5	39,1	40,0
5. 2,4-D + glyphosate	30,8	33,4	36,3	39,8
6. 2,4-D + glufosinate	32,0	34,2	38,3	39,7
Média	32,2	33,1	37,9	39,3
DMS	4,6	6,0	5,1	8,9
CV (%)	6,2	7,9	5,8	9,9
F	0,923 ^{ns}	0,840 ^{ns}	0,997 ^{ns}	0,339 ^{ns}

DAA: dias após a aplicação de herbicidas.

¹ 2,4-D colina (975 g e.a. ha⁻¹), glyphosate (1025 g e.a. ha⁻¹), glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹).^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Entretanto, também para a safra 2017/18, foram observadas diferenças entre os tratamentos aos 21 e 28 DAA (Tabela 5). Aos 21 DAA foram verificadas diferenças para o índice de clorofila total, enquanto que aos 28 DAA foram verificadas diferenças para o índice de clorofila A. Para ambas as safras, a aplicação de 2,4-D colina reduziu os valores em

relação ao verificado para a aplicação de 2,4-D colina + glufosinate, contudo nenhum tratamento reduziu os índices de clorofila em comparação com o controle (sem aplicação). Para demais índices nestas datas de avaliação não foram verificadas diferenças entre os tratamentos.

Tabela 5. Índice de clorofila A, B e total (ICF) das plantas de soja aos 7, 14, 21 e 28 DAA de herbicidas. Safra 2017/18, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Tratamentos ¹	ICF					
	7 DAA			14 DAA		
	A	B	Total	A	B	Total
1. controle	30,2	7,5	37,7	22,4	9,8	32,2
2. 2,4-D	27,8	6,7	34,6	21,0	11,0	32,0
3. glyphosate	28,8	6,5	35,3	23,1	7,4	30,5
4. [2,4-D + glyphosate]	29,8	6,5	36,5	23,7	7,7	31,3
5. 2,4-D + glyphosate	28,0	6,7	34,7	20,9	8,6	29,5
6. 2,4-D + glufosinate	28,5	7,4	35,9	24,4	8,2	32,6
Média	28,9	6,9	35,8	22,6	8,8	31,4
DMS	5,2	3,2	7,2	6,6	4,0	8,3
CV (%)	7,8	20,1	8,8	12,7	19,9	11,5
F	0,733 ^{ns}	0,415 ^{ns}	0,555 ^{ns}	0,997 ^{ns}	2,457 ^{ns}	0,429 ^{ns}

Tratamentos ¹	ICF					
	21 DAA			28 DAA		
	A	B	Total	A	B	Total
1. controle	26,5	8,5	35,0 ab	26,8 ab	8,8	35,6
2. 2,4-D	24,3	6,8	31,1 b	24,4 b	9,3	33,6
3. glyphosate	27,5	9,2	36,7 ab	27,0 ab	7,2	34,1
4. [2,4-D + glyphosate]	24,8	7,6	32,4 ab	25,4 ab	7,3	32,8
5. 2,4-D + glyphosate	25,9	9,4	35,3 ab	25,4 ab	7,8	33,3
6. 2,4-D + glufosinate	28,8	11,3	40,0 a	27,8 a	8,0	35,7
Média	26,3	8,8	35,1	26,2	8,1	34,2
DMS	4,6	5,6	8,0	3,5	2,3	4,8
CV (%)	7,6	27,7	10,0	5,8	12,5	6,1
F	2,755 ^{ns}	1,636 ^{ns}	3,274*	2,945*	2,785 ^{ns}	1,533 ^{ns}

DAA: dias após a aplicação de herbicidas.

¹ 2,4-D colina (975 g e.a. ha⁻¹), glyphosate (1025 g e.a. ha⁻¹), glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹).

4.3.3. Desempenho agrônômico

Para nenhuma das variáveis relacionadas ao desempenho agrônômico foram observadas diferenças entre os tratamentos, para a safra 2016/17. Contudo para a safra 2017/18 foram observadas diferenças entre os tratamentos para a variável número de vagens por planta (Tabela 6).

A aplicação de 2,4-D colina + glufosinate, em pós-emergência, reduziu o número de vagens por planta de soja (safra 2017/18) em comparação com o controle (sem aplicação),

com valores de 39,1 e 44,6, respectivamente. Entretanto os valores verificados para este tratamento não diferem dos observados para demais tratamentos herbicidas. A aplicação dos demais herbicidas não reduziu o número de vagens por planta em comparação com o controle.

Destaca-se ainda que para as demais variáveis não foram verificadas diferenças entre os tratamentos, para ambas as safras. Inclusive produtividade, com valor médio de 3.082 e 2.477 kg ha⁻¹, para as safras 2016/17 e 2017/18 respectivamente.

Tabela 6. Variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo das plantas de soja sob aplicação de herbicidas. Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil.

Tratamentos ¹	Safr 2016/17				Safr 2017/18			
	ALT	NVP	MG	PROD	ALT	NVP	MG	PROD
1. controle	81,7	42,5	166,1	3.008	65,0	44,6 a	204,3	2.432
2. 2,4-D	84,0	44,2	165,4	2.966	68,4	42,9 ab	202,4	2.486
3. glyphosate	81,6	40,3	159,7	2.969	65,8	39,8 ab	207,7	2.501
4. [2,4-D + glyphosate]	82,9	40,0	172,9	3.174	64,8	41,9 ab	210,0	2.375
5. 2,4-D + glyphosate	82,9	42,4	163,5	3.238	66,9	42,1 ab	208,3	2.527
6. 2,4-D + glufosinate	84,0	41,9	165,1	3.133	67,8	39,1 b	211,5	2.542
Média	82,8	41,9	165,4	3.082	66,4	41,8	207,4	2.477
DMS	7,1	12,6	19,8	756	4,5	4,9	15,5	519,9
CV (%)	3,7	13,1	5,2	10,7	2,9	5,1	3,2	9,1
F	0,454 ^{ns}	0,317 ^{ns}	1,009 ^{ns}	0,494 ^{ns}	2,368 ^{ns}	3,731*	1,030 ^{ns}	0,310 ^{ns}

ALT: altura de plantas (cm); NVP: número de vagens por planta; MG: massa de 1.000 grãos (g); PROD: produtividade (kg ha⁻¹).

¹ 2,4-D colina (975 g e.a. ha⁻¹), glyphosate (1025 g e.a. ha⁻¹), glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹).

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (1949) ($p < 0,05$). ^{ns} Não-significativo, médias não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

4.4. Discussão

As plantas da soja apresentaram no máximo 3% de injúria devido a aplicação de 2,4-D colina, glyphosate e glufosinate em pós-emergência, e sem diferenças para o controle (sem aplicação). De modo semelhante Schryver et al. (2017) verificaram sintomas de injúria em soja E3 de no máximo 2%, para aplicação da mistura de fábrica de 2,4-D colina + glyphosate (838,5 + 881,5 g e.a. ha⁻¹), isolada ou em associação com herbicidas em pré-emergência. Enquanto que Robinson et al. (2015) observaram sintomas de injúria de no máximo 3% em soja DAS68416 (*aad-12* transformada) para aplicação de 2,4-D dimetilamina em diferentes programas de manejo químico.

A aplicação de glufosinate (450 g i.a. ha⁻¹) isolado ou em associação com 2,4-D amina (1.120 g e.a. ha⁻¹), em pós-emergência, proporcionou injúrias de no máximo 3% em plantas de soja tolerante a 2,4-D e glufosinate (*aad-12* e *pat* transformada) (Craigmyle et al., 2013a). De modo semelhante a aplicação de glufosinate isolado ou em associação com 2,4-D

colina em pós-emergência, proporcionou injúrias de no máximo 5% em plantas de soja tolerante a 2,4-D colina e glufosinate (*aad-12* e *pat* transformada) (Craigmyle et al., 2013b).

Apesar de observadas algumas diferenças nos índices de clorofila, nenhum dos herbicidas aplicadas reduziram os índices de clorofila das plantas de soja em comparação com o controle (sem aplicação). Resultados estes de acordo com o observado para os sintomas de injúria. Não são reportados na literatura efeitos de 2,4-D, glyphosate e glufosinate nos índices de clorofila em soja E3, destacam-se assim os resultados verificados no presente estudo.

Entretanto soja tolerante a glyphosate (*cp4epsps* transformada) apresentou sintomas de injúria e reduções nos índices de clorofila com o incremento das doses de glyphosate aplicadas em pós-emergência, contudo sem reduções em produtividade (Albrecht et al., 2018). As injúrias em soja tolerante a glyphosate são caracterizadas pelo *yellow flashing*, que pode ser definido como sintoma visual do efeito negativo do glyphosate sobre parâmetros fotossintéticos e teores de clorofila (Zablotowicz & Reddy, 2004; Zobiole et al., 2010). Sintoma este não observado para a aplicação de glyphosate em soja E3 no presente estudo.

Em soja tolerante a glufosinate (*pat* transformada) não foram observados sintomas de injúria e reduções em produtividade para aplicação em pós-emergência de glufosinate em diferentes programas de manejo químico (Barnes et al., 2017; Jhala et al., 2017), assim como verificado no presente estudo.

Destaca-se a tolerância da soja E3 aos herbicidas 2,4-D colina, glyphosate e glufosinate, para a aplicação em pós-emergência. No presente estudo dentre as variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo, apenas para número de vagens por planta para a safra 2017/18 foram observadas diferenças entre os tratamentos. A aplicação de 2,4-D colina + glufosinate reduziu o número de vagens em relação ao controle (sem aplicação). Robinson et al., (2015) também não observaram redução em variáveis relacionadas ao desempenho agrônomo, dentre elas produtividade e número de vagens, devido a aplicação de 2,4-D dimetilamina em soja DAS-68416 (*aad-12* transformada), em diferentes estádios.

Miller & Norsworthy (2016) e Frene et al. (2018) também não verificaram reduções em produtividade de soja E3 devido a aplicação 2,4-D colina, glyphosate e glufosinate em diferentes programas de manejo químico. Outros estudos reportam a tolerância de soja E3, sem reduções em produtividade, para aplicação de 2,4-D + glyphosate (Schryver et al., 2017) e 2,4-D + glufosinate (Craigmyle et al., 2013a,b).

Além dos resultados, obtidos no presente estudo e demais citados, acerca da seletividade de 2,4-D, glyphosate e glufosinate em soja E3, outros estudos também destacam

a eficácia destes herbicidas no controle de plantas daninhas, como observado por Osipe et al. (2017), Montgomery et al. (2017), Meyer et al. (2015), Chahal et al. (2015) entre outros. Assim devido a possibilidade da utilização de outros herbicidas, além de glyphosate, a soja E3 pode ser alternativa no controle e prevenção da seleção de plantas daninhas resistentes a glyphosate, uma vez que associação e rotação de herbicidas de diferentes mecanismos de ação são importantes neste sentido (Green, 2018; Heap & Duke, 2018; Kniss, 2018).

4.5. Conclusão

O herbicida 2,4-D colina, isolado ou em associação com glyphosate ou glufosinate, não reduziu os índices de clorofila e produtividade de soja Enlist E3, para aplicação em pós-emergência (V4). Constata-se assim a tolerância da soja Enlist E3 para aplicação, isolada ou em associações, herbicidas 2,4-D colina (975 g e.a. ha⁻¹), glyphosate (1.025 g e.a. ha⁻¹) e glufosinate (460 g i.a. ha⁻¹).

Referências

- Albrecht, A.J.P., Albrecht, L.P., Barroso, A.A.M., Cesco, V.J.S., Krenchinski, F.H., Silva, A.F.M., ... Victoria Filho, R. (2018). Glyphosate tolerant soybean response to different management systems. *Journal of Agricultural Science*, 10(1), 204-216. doi:10.5539/jas.v10n1p204
- Barbieri Júnior, E., Rossiello, R.O.P., Silva, R.V.M.M., Ribeiro, R.C., & Morenz, M.J.F. (2012). A new chlorophyll meter to estimate chlorophyll contents in leaves of Tifton 85 bermudagrass. *Ciência Rural*, 42(12), 2242-2245. doi:10.1590/S0103-84782012005000109
- Barnes, E.R., Knezevic, S.Z., Sikkema, P.H., Lindquist, J.L., & Jhala, A.J. (2017). Control of glyphosate-resistant Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) in glufosinate-resistant soybean *Glycine max* (L.) Merr. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1445. doi:10.3389/fpls.2017.01455
- Chahal, P.S., Aulakh, J.S., Rosenbaum, K., & Jhala, A.J. (2015). Growth stage affects dose response of selected glyphosate-resistant weeds to premix of 2,4-D choline and glyphosate (Enlist Duo™ herbicide). *Journal of Agricultural Science*, 7(11), 1–10. doi:10.5539/jas.v7n11p1

- Craigmyle, B.D., Ellis, J.M., & Bradley, K.W. (2013a). Influence of herbicide programs on weed management in soybean with resistance to glufosinate and 2,4-D. *Weed Technology*, 27(1), 78-84. doi:10.1614/wt-d-12-00099.1
- Craigmyle, B.D., Ellis, J.M., & Bradley, K.W. (2013b). Influence of weed height and glufosinate plus 2,4-D combinations on weed control in soybean with resistance to 2,4-D. *Weed Technology*, 27(2), 271-280. doi:10.1644/wt-d-12-00100.1
- Fehr, W.R., Caviness, C.E., Burmood, D.T., & Penningt, J.S. (1971). Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L) Merrill. *Crop Science*, 11(6), 929-931. doi:10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x
- Frene, R.L., Simpson, D.M., Buchanan, M.B., Vega, E.T., Ravotti, M.E., & Valverde, P.P. (2018). Enlist E3™ soybean sensitivity and Enlist™ herbicide-based program control of Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis*). *Weed Technology*, 32(4), 1-8. doi:10.1017/wet.2018.29
- Green, J.M. (2018). The rise and future of glyphosate and glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 74(5), 1035-1039. doi:10.1002/ps.4462
- Griffin, S.L., Godbey, J.A., Oman, T.J., Embrey, S.K., Karnoup, A., Kuppanan, K., ... Cicchillo, R.M. (2013). Characterization of aryloxyalkanoate dioxygenase-12, a nonheme Fe (II)/ α -ketoglutarate-dependent dioxygenase, expressed in transgenic soybean and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(27), 6589-6596. doi:10.1021/jf4003076
- Heap, I., & Duke, S.O. (2018). Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide. *Pest Management Science*, 74(5), 1040-1049. doi:10.1002/ps.4760
- Herouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., ... Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41(2), 134-149. doi:10.1016/j.yrtph.2004.11.002
- Herouet-Guicheney, C., Rouquie, D., Freyssinet, M., Currier, T., Martone, A., Zhou, J., ... Rouan, D. (2009). Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54(2), 143-153. doi:10.1016/j.yrtph.2009.03.005

- Jhala, A.J., Sandell, L.D., Sarangi, D., Kruger, G.R., & Knezevic, S.Z. (2017). Control of glyphosate-resistant Common Waterhemp (*Amaranthus rudis*) in glufosinate-resistant soybean. *Weed Technology*, 31(1), 32-45. doi:10.1017/wet.2016.8
- Kalsing, A., Rossi, C.V., Lucio, F.R., Zobiole, L.H., Cunha, L.C., & Minozzi, G.B. (2018). Effect of formulations and spray nozzles on 2,4-D spray drift under field conditions. *Weed Technology*, 32(4), 1-6. doi:10.1017/wet.2018.18
- Kniss, A.R. (2018). Genetically engineered herbicide-resistant crops and herbicide-resistant weed evolution in the United States. *Weed Science*, 66(2), 260-273. doi:10.1017/wsc.2017.70
- Lepping, M.D., Herman, R.A., & Potts, B.L. (2013). Compositional equivalence of DAS-44406-6 (AAD-12+2mEPSPS+PAT) herbicide-tolerant soybean and nontransgenic soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11180-11190. doi:10.1021/jf403775d
- Li, M., Tank, H., Kennedy, A., Zhang, H., Downer, B., Ouse, D., & Liu, L. (2013). Enlist Duo herbicide: a novel 2,4-D plus glyphosate premix formulation with low potential for off-target movement. *Pesticide Formulations and Delivery Systems: Innovating Legacy Products for New Uses*, 32(1558), 3-14. doi:10.1520/stp155820120079
- Meyer, C.J., Norsworthy, J.K., Young, B.G., Steckel, L.E., Bradley, K.W., Johnson, W.G., ... Butts, T.R. (2015). Herbicide Program approaches for managing glyphosate-resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) and Waterhemp (*Amaranthus tuberculatus* and *Amaranthus rudis*) in future soybean-event technologies. *Weed Technology*, 29(4), 716-729. doi:10.1614/wt-d-15-00045.1
- Miller, M.R., & Norsworthy, J.K. (2016). Evaluation of herbicide programs for use in a 2,4-D-resistant soybean technology for control of glyphosate-resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Weed Technology*, 30(2), 366-376. doi:10.1614/wt-d-15-00129.1
- Montgomery, G.B., Treadway, J.A., Reeves, J.L., & Steckel, L.E. (2017). Effect of time of day of application of 2,4-D, dicamba, glufosinate, paraquat, and saflufenacil on Horseweed (*Conyza canadensis*) control. *Weed Technology*, 31(4), 550-556.
- Oliveira Júnior, R.S. (2011). Mecanismos de Ação dos Herbicidas. In R.S. Oliveira Júnior, J. Constantin, & M.H. Inoue (Eds.), *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas* (p. 141-192). Curitiba, PR: Ominipax.
- Osipe, J.B., Oliveira Júnior, R.S., Constantin, J., Takano, H.K., & Biffe, D.F. (2017). Spectrum of weed control with 2,4-D and dicamba herbicides associated to glyphosate or not. *Planta Daninha*, 35, e017160815. doi:10.1590/s0100-83582017350100053

- Peterson, M.A., McMaster, S.A., Riechers, D.E., Skelton, J., & Stahlman, P.W. (2016). 2,4-D past, present, and future: a review. *Weed Technology*, 30(2), 303-345. doi:10.1614/wt-d-15-00131.1
- Pimentel-Gomes, F., & Garcia, C.H. (2002). *Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos*. Piracicaba, SP: FEALQ.
- Queiroz, A.R.S., & Vidal, R.A. (2014). The development of dichlorophenoxyacetate herbicide tolerant crops: literature review. *Planta Daninha*, 32(3), 649-654. doi:10.1590/S0100-83582014000300021
- Robinson, A.P., Simpson, D.M., & Johnson, W.G. (2015). Response of aryloxyalkanoate dioxygenase-12 transformed soybean yield components to postemergence 2,4-D. *Weed Science*, 63(1), 242-247. doi:10.1614/ws-d-14-00036.1
- Schryver, M.G., Soltani, N., Hooker, D.C., Robinson, D.E., Tranel, P.J., & Sikkema, P.H. (2017). Control of glyphosate-resistant Common waterhemp (*Amaranthus rudis*) in three new herbicide-resistant soybean varieties in Ontario. *Weed Technology*, 31(6), 828-837. doi:10.1017/wet.2017.81
- Sosnoskie, L.M., Culpepper, A.S., Braxton, L.B., & Richburg, J. S. (2015). Evaluating the volatility of three formulations of 2,4-D when applied in the field. *Weed technology*, 29(2), 177-184. doi:10.1614/WT-D-14-00128.1
- Tukey, J.W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 5(2), 99-114. doi:10.2307/3001913
- Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., & Pleijel, H. (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 91(1), 37-46. doi:10.1007/s11120-006-9077-5
- Velini, D.E., Osipe, R., & Gazziero, D.L.P. (1995). *Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas*. Londrina, PR: SBCPD.
- Wright, T.R., Shan, G.M., Walsh, T.A., Lira, J.M., Cui, C., Song, P., ... Zhang, Z.Y. (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(47), 20240-20245. doi:10.1073/pnas.1013154107
- Zablotowicz, R.M., & Reddy, K.N. (2004). Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean. *Journal of Environmental Quality*, 33(3), 825-831. doi:10.2134/jeq2004.0825

Zobiole, L.H.S., Kremer, R.J., Oliveira Júnior, R.S., & Constantin, J. (2010). Glyphosate affects photosynthesis in first and second generation of glyphosate-resistant soybeans. *Plant and Soil*, 336(1-2), 251-265. doi:10.1007/s11104-010-0474-3

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi constatada a seletividade equivalente de glyphosate para soja Enlist E3 e soja Roundup Ready, independente do estágio de desenvolvimento. Assim como, a seletividade equivalente de glufosinate para soja Enlist E3 e soja Liberty Link, independente do estágio de desenvolvimento. Também a seletividade de 2,4-D colina isolado ou em associações com glyphosate ou glufosinate em soja Enlist.

Como já destacado, associação e rotação de herbicidas de diferentes mecanismos de ação são de grande importância na prevenção da resistência de plantas daninhas a herbicidas, e no manejo da mesmas. Portanto a tecnologia Enlist E3 caracteriza-se como alternativa no manejo de plantas daninhas resistentes à glyphosate, pela possibilidade de uso de 2,4-D colina e glufosinate, além de glyphosate.

Destaca-se também que não são reportados na literatura, estudos que comparem soja Enlist E3 com soja Roundup Ready, quanto a tolerância a glyphosate, assim como soja Enlist E3 com soja Liberty Link quanto a tolerância glufosinate. Ressalta-se, portanto, a importância deste estudo.