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

**Aspectos do glufosinato de amônio como principal ferramenta de controle
no manejo de plantas daninhas na soja**

Maiara Maria Franzoni

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2018

Maiara Maria Franzoni
Engenheira Agrônoma

Aspectos do glufosinato de amônio como principal ferramenta de controle no manejo de
plantas daninhas na soja

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI**

Dissertação apresentada para obtenção do título Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2018

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

Franzoni, Maiara Maria

Aspectos do glufosinato de amônio como principal ferramenta de controle no manejo de plantas daninhas na soja / Maiara Maria Franzoni. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

51 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Culturas transgênicas 2. Impacto ambiental 3. Seletividade 4. Liberty Link®
I. Título

DEDICATÓRIA

*A Deus e à Santa Teresinha do Menino Jesus e
Aos meus pais, Mônica Aparecida Caetano Franzoni e Silvío Roberto
Franzoni, que me apoiaram incondicionalmente.*

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq/USP) por proporcionar a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao professor Pedro Jacob Christoffoleti pela paciência e pela oportunidade de realizar trabalhos desde 2014, ainda na graduação.

Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal da Esalq/USP, em especial à Luciane Aparecida Lopes Toledo, Elisabete Sarkis São João e Aparecido Donizete Serrano.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias por toda a ajuda na parte estatística deste trabalho.

A todos do laboratório de microbiologia do solo no Departamento de Solos (Esalq/USP), pelos ensinamentos e pela ajuda.

Aos amigos de pós-graduação, entre eles: Ana Lígia Giraldeli, André Moreira, Jackellyne Bruna e Gressa Chinelato.

A todos do Grupo de Experimentação em Biologia de Plantas Daninhas (GEBPD) e do Grupo de Pesquisa e Extensão em Horticultura e Plantas Daninhas (PRO-HORT).

À Colorado State University (CSU) por proporcionar a realização de parte deste trabalho.

A todos que me ajudaram e me apoiaram durante meu período na CSU, em especial: Prof. Dr. Scott Nissen, Shannon Clark, Jéssica Scarpin, Vanessa e Hudson Takano, Ana Beatriz Bachur e Marcelo Figueiredo.

À toda minha família, em especial aos meus pais, pelo amor e apoio incondicional.

Ao meu namorado, Paolo Tulio di Nizo, pelo companheirismo e compreensão em todos os momentos.

Aos meus amigos, por me apoiarem sempre.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
REFERÊNCIAS	12
2. EFICÁCIA E SELETIVIDADE DE GLUFOSINATO DE AMÔNIO NA CULTURA DA SOJA	17
RESUMO.....	17
ABSTRACT	17
2.1. INTRODUÇÃO.....	18
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.2.1 EXPERIMENTO REALIZADO EM CAMPO	20
2.2.1.1 AVALIAÇÕES DE INTOXICAÇÃO DA SOJA EM CONDIÇÕES DE CAMPO	21
2.2.1.2 AVALIAÇÕES DO CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS.....	22
2.2.1.3 AVALIAÇÕES DA PRODUTIVIDADE DA SOJA	22
2.2.2 EXPERIMENTO REALIZADO EM CASA DE VEGETAÇÃO	23
2.2.1.3 AVALIAÇÕES DE INTOXICAÇÃO DA SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO	24
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
2.3.1 SELETIVIDADE DE GLUFOSINATO DE AMÔNIO NA CULTURA DA SOJA	24
2.3.2 EFICÁCIA DO GLUFOSINATO DE AMÔNIO NA CULTURA DA SOJA.....	26
REFERÊNCIAS	30
3. IMPACTO DO USO DO GLUFOSINATO DE AMÔNIO NA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E NODULAÇÃO EM PLANTAS DE SOJA TOLERANTES AO HERBICIDA	35
RESUMO.....	35
ABSTRACT	35
3.1 INTRODUÇÃO.....	36
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.2.1 CONDUÇÃO DA SOJA EM CAMPO	37
3.2.2 AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E NODULAÇÃO	38
3.2.3 AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E NODULAÇÃO	39
3.2.4 AVALIAÇÃO DO GLUFOSINATO DE AMÔNIO E GLUTAMATO NAS PLANTAS DE SOJA ..	40
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.3.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA E ESPECTROMETRIA DE MASSA	41
3.3.2 NODULAÇÃO	43
3.3.3 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR	44
3.3.4 IMPACTO DA NOCULAÇÃO E COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR NA PRODUTIVIDADE DA SOJA.....	45
3.3.5 GLUFOSINATO DE AMÔNIO E GLUTAMATO NA PARTE AÉREA E SISTEMA RADICULAR DAS PLANTAS DE SOJA	46
REFERÊNCIAS	47
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51

RESUMO

Aspectos do glufosinato de amônio como principal ferramenta de controle no manejo de plantas daninhas na soja

A soja tolerante ao glufosinato de amônio (Liberty Link®) foi lançada comercialmente no Brasil na safra 2016/2017, sendo pouco conhecido seu desempenho agrônomo e impacto na nodulação e colonização micorrízica arbuscular. O objetivo foi avaliar esse sistema de produção envolvendo o herbicida glufosinato de amônio nos seguintes aspectos: (i) eficácia de controle de plantas daninhas; (ii) seletividade para a cultura da soja; (iii) impacto dos cultivares de soja e do glufosinato de amônio sobre a nodulação e colonização micorrízica arbuscular. Para isso, foi desenvolvido experimento em campo, em área de produção comercial da cultura, em que tais aspectos foram avaliados em diferentes cultivares de soja (convencional, tolerante ao glifosato ou glufosinato de amônio) e em diferentes manejos de plantas daninhas (com e sem capina, aplicação de 1.440 g e.a. ha⁻¹ de glifosato e 500 g i.a. ha⁻¹ de glufosinato de amônio + 0,5 L ha⁻¹ de óleo vegetal metilado). Foi conduzido experimento em casa de vegetação sobre seletividade dos herbicidas, nas mesmas doses e cultivares transgênicos do experimento em campo. Adicionalmente, foi realizado experimento em condições de casa de vegetação e em laboratório, avaliando a presença de glufosinato de amônio e glutamato na soja tolerante ou sensível ao glufosinato de amônio. Foi possível verificar baixa intoxicação das plantas de soja após aplicação do glufosinato de amônio, com rápida recuperação ao longo dos experimentos. Não houve diferença no controle de plantas daninhas (*Alternanthera tenella*, *Sorghum halepense*, *Physalis angulata* e *Parthenium hysterophorus*) e na produtividade de soja nos diferentes tratamentos. Pela representação de Draftsman foi possível observar que as espécies *A. tenella*, *P. angulata* e *P. hysterophorus* foram as que mais influenciaram na massa seca da comunidade infestante da cultura. Não houve diferença entre os tratamentos quanto à nodulação. Não se verificou influência da nodulação e micorrização sobre a produtividade. Embora a colonização micorrízica tenha sido significativamente menor na soja tolerante ao glufosinato com aplicação desse herbicida, isso não refletiu em redução da produtividade. Não foram constatados glufosinato de amônio e glutamato nas raízes das plantas que justificasse a diminuição da colonização micorrízica na soja tolerante ao glufosinato devido à aplicação do mesmo. O uso de glufosinato de amônio em soja tolerante ao herbicida, em comparação com outros sistemas utilizados, demonstrou ser seguro e similar à tecnologia tolerante ao glifosato, possibilitando outra opção de ferramenta de manejo de plantas daninhas na cultura da soja, sem interferência na produtividade final dos grãos, especialmente em condições nutricionais adequadas como ocorreu nesse estudo, sendo apenas alertado sobre seu possível impacto negativo na colonização micorrízica arbuscular.

Palavras-chave: Culturas transgênicas; Impacto ambiental; Seletividade; Liberty Link®

ABSTRACT

Aspects of ammonium glufosinate as the main control tool for weed management in soybean

The glufosinate-tolerant soybean (Liberty Link®) was commercially launched in Brazil in the 2016/2017 harvest, with little knowledge of its agronomic performance and impact on nodulation and arbuscular mycorrhizal colonization. The aim was to evaluate the production system involving the soybean tolerant to the herbicide glufosinate ammonium in the following aspects: (i) weed management effectiveness; (ii) selectivity to the soybean crop; (iii) impact of soybean and ammonium glufosinate cultivars on nodulation and arbuscular mycorrhizal colonization. For this, an experiment was carried out in the field of commercial crop production, in which these aspects were evaluated in different soybean cultivars (conventional, tolerant to glyphosate or ammonium glufosinate) and different weed management (with and without weeding, application of glyphosate 1440 a.e. g ha⁻¹ and ammonium glufosinate 500 a.i. g ha⁻¹ + methylated vegetable oil 0.5 L ha⁻¹). An experiment was conducted under greenhouse conditions on herbicide selectivity, in the same doses and transgenic cultivars of the field experiment. In addition, an experiment was carried out under greenhouse conditions and in the laboratory, evaluating the presence of ammonium glufosinate and glutamate in soybean tolerant to ammonium glufosinate or glyphosate. It was possible to verify low intoxication of soybean plants after application of ammonium glufosinate, with rapid recovery throughout the experiments. There was no difference in weed control (*Alternanthera tenella*, *Sorghum halepense*, *Physalis angulata* and *Parthenium hysterophorus*) and soybean yield in the different treatments. By the representation of Draftsman it was possible to observe that the species *A. tenella*, *P. angulata* and *P. hysterophorus* were the ones that most influenced the weed community dry mass of the culture. There was no difference among treatments in nodulation. There was no influence of nodulation and mycorrhization on productivity. Although mycorrhizal colonization was significantly lower in glufosinate tolerant soybean with application of this herbicide, it did not reflect a reduction in productivity. No glufosinate or ammonium and glutamate were found in the roots of the plants that justified the reduction of the mycorrhizal colonization in soybeans tolerant to glufosinate due to its application. The use of ammonium glufosinate in glufosinate-tolerant soybean, compared to other systems used, shows to be safe and similar to the glyphosate tolerant technology, allowing another option of weed management tool in the soybean crop, without interfering in the final productivity of the grains, especially in adequate nutritional conditions as occurred in this study, being only warned about its possible negative impact on arbuscular mycorrhizal colonization.

Keywords: Transgenic crops; Environmental impact; Selectivity; Liberty Link®

1. INTRODUÇÃO

A glutamina sintetase (GS) é uma enzima de extrema importância no metabolismo do nitrogênio, cuja ação é complexa e, em geral faz com que o amônio provindo da redução de nitratos e o glutamato resultem na glutamina, a qual é precursora de inúmeras reações que envolvem a síntese de diversos aminoácidos, já que isso ocorre na conversão do nitrogênio inorgânico em compostos orgânicos (MIFLIN; HABASH, 2002; CARVALHO, 2013).

O herbicida glufosinato de amônio inibe a ação da enzima glutamina sintetase, se ligando irreversivelmente à enzima no sítio de ação do glutamato. Isso resulta em acúmulo de amônio em níveis tóxicos e inibição da fotorrespiração devido a redução dos níveis de aminoácidos (Duke e Dayan, 2011). Esse produto é uma versão sintética da fosfotricina, substância produzida pelas espécies bacterianas *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygroscopicus* (Dayan e Duke, 2014).

O herbicida é não seletivo, sendo que as plantas perecem com a aplicação do glufosinato de amônio primeiramente devido ao acúmulo de amônio nas células, o que causa destruição das mesmas e inibe diretamente as reações dos fotossistemas I e II, além de reduzir o gradiente de pH na membrana, o que pode desacoplar a fotofosforilação (COETZER; AL-KHATIB, 2001).

O glufosinato de amônio é um ácido fraco que possui grande solubilidade em água [$1,37 \cdot 10^6 \text{ mg L}^{-1}$ coeficiente de partição N- octanol/água (K_{ow}) $< 0,1$], não volátil (pressão de vapor $< 0,1 \text{ mPa}$), além de ser considerado um produto extremamente tóxico com classificação toxicológica I (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). O produto apresenta lixiviação no solo, onde é rapidamente degradado por via química e microbiana e possui baixa persistência, com o tempo de meia-vida em campo por volta de 7 dias, variação de 7 a 20 dias (FOOTPRINT, 2013; TAYEB et al., 2017). Esse herbicida não é absorvido por via radicular e por sementes, somente por tecidos vivos, como folhas, ramos e brotos. O produto é composto por dois isômeros óticos D e L, o isômero L-glufosinato atua como um potente inibidor da glutamina sintetase, enquanto o D-glufosinato não apresenta atividade herbicida e não é metabolizado pelas plantas (CARBONARI et al., 2016).

O herbicida glufosinato de amônio é recomendado para inúmeras espécies de plantas daninhas (monocotiledôneas e eudicotiledôneas). O produto tem ação de contato, não sistêmico, devido a significativa ausência de translocação nas plantas, fazendo com que seja

necessário que as invasoras estejam em estádios iniciais de desenvolvimento para o adequado manejo das mesmas (CREECH et al., 2015; BAYER, 2017). Desse modo, sua aplicação deve ser realizada em momentos adequados e com constante monitoramento (MELO et al., 2012).

O herbicida vem ganhando destaque por ser uma alternativa para o manejo de plantas daninhas resistentes ao glifosato (LATORRE et al., 2013). Em todo o mundo, várias espécies desenvolveram resistência ao glifosato, o que se constitui em um grande desafio para os agricultores. Os produtores de soja do Brasil, em especial, enfrentam esse obstáculo já que muitos dos biótipos resistentes no país, segundo Heap (2017), foram relatados em campos de produção dessa cultura, devido ao uso intensivo de glifosato em culturas tolerantes ao herbicida (LAZAROTO et al., 2008; SWEENEY; JONES, 2015), o que gerou a necessidade de alternativas de manejo (VARGAS et al., 2013).

A cultura de soja tem grande relevância para o Brasil, o qual é o segundo maior produtor e maior exportador de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) do mundo (USDA, 2017), com produção de 114.075,3 mil toneladas de soja na safra 2016/2017 (CONAB, 2017). Para manter esta posição de destaque no mundo, o país necessita de um sistema de produção eficiente e de custo compatível para manter sua competitividade no mercado internacional.

Em 2010, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) autorizou a introdução de cultivares de soja geneticamente modificadas tolerantes ao herbicida glufosinato de amônio no Brasil, denominadas de Liberty Link® (LL). Tal tecnologia é obtida com a inserção do gene fosfinotricina acetiltransferase (gene PAT) nas plantas cultivadas, como a soja. Isso permite o uso do glufosinato de amônio dentro do sistema de produção, já que desse modo o produto é detoxificado pelas plantas com a ação do gene PAT (DRÖGE et al., 1992). A tecnologia pode também beneficiar o sistema devido ao fato de que, em geral, menos máquinas são necessárias e a rotação das culturas é otimizada devido ao baixo resíduo no solo por esse produto (KRENCHINSKI et al., 2018).

Embora a adoção de soja Liberty Link® atualmente ser lenta no país, considera-se a introdução ainda recente, além de que a evolução de biótipos de plantas daninhas resistentes ao glifosato está levando os produtores a buscar tecnologias alternativas de tolerância a herbicidas de plantas cultivadas (AULAKH; JHALA, 2015).

A exemplo disso, no centro-sul dos Estados Unidos, os produtores começaram a adotar a soja Liberty Link® como opção para controlar biótipos de *Amaranthus palmeri* resistente a

glifosato (RIAR et al., 2013). Já no meio-oeste dos Estados Unidos, estima-se que a adoção dessa tecnologia seja em uma escala relativamente grande em um futuro próximo para manejo de plantas daninhas resistentes a glifosato, como *Amaranthus tuberculatus* e *Ambrosia trifida*, além de milho voluntário resistente ao glifosato, plantas as quais tem se constatado excelente controle pela aplicação de glufosinato de amônio (CHAHAL; JHALA, 2015).

No entanto, não são totalmente conhecidos o desempenho agrônômico, a eficácia e os possíveis efeitos negativos nas simbioses da soja pela aplicação do glufosinato de amônio em cultura de soja no Brasil, de forma seletiva condicional e em pós-emergência da cultura. Esse fato deve-se a introdução muito recente dos sistemas de produção com soja tolerante ao glufosinato de amônio, safra 2016/17.

O controle de plantas daninhas tem se constituído em um dos principais fatores antropogênicos com potencialidade de alterar a microbiota dos solos agrícolas. Assim, tem sido relatado que o uso de herbicidas pode diminuir a atividade microbiana (SCHMIDT et al., 2013), ou mesmo aumentá-la (FARIA et al.; 2014), resultados os quais dependem de vários fatores, dentre eles estão a comunidade microbiana existente, manejo do solo, manejo dos produtos fitossanitários, características dos produtos aplicados, entre outros (RIBAS; MATSURA, 2009).

A associação simbiótica das plantas de soja com a microbiologia do solo, como a bactéria do gênero *Bradyrhizobium* ou a colonização micorrízica arbuscular, é de fundamental importância para as plantas dessa leguminosa, especialmente quanto aos aspectos nutricionais (FINLAY, 2008; KONDOROSI et al., 2013; CELY et al., 2016). Embora a translocação de glufosinato de amônio seja limitada, em espécies pouco ou muito insensíveis a esse herbicida, há relatos de alguma translocação para raízes (STECKEL et al., 1997; BERIAULT et al., 1999; NOLTE et al., 2017), o que poderia resultar em algum efeito nas simbioses citadas.

Desse modo, o objetivo foi avaliar o sistema de produção envolvendo a soja resistente ao herbicida glufosinato de amônio nos seguintes aspectos: (i) eficácia de manejo de plantas daninhas; (ii) seletividade para a cultura da soja; (iii) impacto dos cultivares de soja e do glufosinato de amônio sobre a nodulação e colonização micorrízica arbuscular.

REFERÊNCIAS

- AULAKH, J.S.; JHALA, A.J. Comparison of glufosinate-based herbicide programs for broad-spectrum weed control in glufosinate-resistant soybean. **Weed Technology**, v.29, n.3, p.419-430, 2015.
- BAYER. **Finale**. Disponível em: <<https://www.agro.bayer.com.br/produtos/finale>>. Acessado em: 01 out. 2017.
- BERIAULT, J.N.; HORSMAN, G.P.; DEVINE M.D. Phloem transport of D, L-glufosinate and acetyl-L-glufosinate in glufosinate-resistant and-susceptible *Brassica napus*. **Plant Physiology**, v. 121, n. 2, p. 619-628, 1999.
- CARBONARI, C.A.; LATORRE, D.O.; GOMES, G.L.; VELINI, E.D.; OWENS, D.K.; PAN, Z.; DAYAN, F.E. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**, v. 243, n. 4, p. 925-933, 2016.
- CARVALHO, L.B. **Herbicidas**. 1 Ed. Lages, SC: Editado pelo autor, p. 42-43, 2013.
- CELY M.V. et al. Inoculant of arbuscular mycorrhizal fungi (*Rhizophagus clarus*) increase yield of soybean and cotton under field conditions. **Frontiers in microbiology**, v.7, n.1, 2016.
- CHAHAL, G.S.; JOHNSON W.G. Influence of glyphosate or glufosinate combinations with growth regulator herbicides and other agrochemicals in controlling glyphosate-resistant weeds. **Weed Technology**, v.26, n.4, p.638–643, 2012.
- COETZER, E.; AL-KHATIB, K. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in Palmer amaranth after glufosinate application. **Weed Science**, v. 49, n. 4, p. 454-459, 2001.
- [CONAB] COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. 2017. **Brasil Grãos - Série Histórica de Área, Produção e Produtividade: Safras 1976/77 a 2016/17**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2>>. Acesso em: 20 out. 2017.
- CREECH, C.F.; HENRY, R.S.; WERLE, R.; SANDELL, L.D.; HEWITT, A.J.; KRUGER, G.R. Performance of postemergence herbicides applied at different carrier volume rates. **Weed Technology**, v. 29, n. 3, p. 611-624, 2015.
- DUKE S.O.; DAYAN F.E. Modes of action of microbially-produced phytotoxins. **Toxins**, v.3, n.8, p.1038-1064, 2011.
- DAYAN, F.E.; DUKE, S.O. Natural compounds as next-generation herbicides. **Plant Physiology**. v.166, n.3, p.1090-105, 2014.

- DRÖGE, W.; BROER, I.; PÜHLER, A. Transgenic plants containing the phosphinothricin-N-acetyltransferase gene metabolize the herbicide L-phosphinothricin (glufosinate) differently from untransformed plants. **Planta**, v. 187, n. 1, p. 142-151, 1992.
- FARIA A.T.; SARAIVA D.T.; PEREIRA A.M.; ROCHA P.R.R.; SILVA A.A.; SILVA D.V.; FERREIRA E.A.; SILVA G.S. Efeitos de herbicidas na atividade da microbiota rizosférica e no crescimento da cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4., p. 1024-1032, 2014.
- FINLAY, R.D. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 5, p. 1115-1126, 2008.
- FOOTPRINT. 2013. **The Pesticide Properties Database (PPDB)**. Developed by the Agriculture & Environment Research Unit (AERU). University of Hertfordshire, funded by UK national sources and the EU-funded FOOTPRINT project (FP6-SSP-022704). Disponível em: < <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/372.htm>>. Acesso em: 21 de out. 2017.
- HEAP, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em: 20 de out. 2017.
- HESS, D. F. Light-dependent herbicides: An overview. **Weed Science**, v. 48, n. 2, p. 160-170, 2000.
- KRENCHINSKI, F. H.; ALBRECHT, A. J. P.; CESCO, V. J. S.; RODRIGUES, D. M.; PEREIRA, V. G. C.; ALBRECHT, L. P.; CARBONARI, C.A.; VICTÓRIA FILHO, R. Post-emergent applications of isolated and combined herbicides on corn culture with cp4-epsps and pat genes. **Crop Protection**, 106, p.156-162, 2018.
- KONDOROSI, E.; MERGAERT, P.; KERESZT, A. A paradigm for endo-symbiotic life: cell differentiation of Rhizobium bacteria provoked by host plant factors. **Annual Review of Microbiology**, v. 67, p. 611-628, 2013.
- LATORRE, D.D.O.; SILVA, I.P.D. F.; SILVA JR., J.F.; PUTTI, F.F.; SCHIMIDT, A.P.; LUDWIG, R. Herbicidas inibidores da glutamina sintetase/herbicide inhibitors glutamine synthetase I. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 7, n. 3, p. 134-141, 2013.
- LAZAROTO, C. A.; FLECK, N.G.; VIDAL, R. A. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 852-860, 2008.

- MANDERSCHIED, R.; WILD, A. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. **Journal of Plant Physiology**, v. 123, n. 2, p. 135-142, 1986.
- MELO, M.S.C.; ROSA, L.E.; BRUNHARO, C.A.D.C.G.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Alternativas para o controle químico de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 2, p. 195-203, 2012.
- MIFLIN, J.B.; HABASH, D.Z. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 979-987, 2002.
- NOLTE, S.A.; YOUNG, B. G.; TOLLEY, L. T.; GIBSON, D. J.; YOUNG, J. M.; LIGHTFOOT, D. A. Glufosinate absorption, translocation, and metabolic fingerprint effects in gdhA-transformed tobacco. **Crop Science**, v. 57, n. 1, p. 350-364, 2017.
- RIAR, D.S.; NORSWORTHY, J.K.; STECKEL, L.E.; STEPHENSON IV, D.O.; EUBANK, T.W.; SCOTT, R.C. Assessment of weed management practices and problem weeds in the midsouth United States—soybean: a consultant's perspective. **Weed technology**, v.27, n.3, p.612-622, 2013.
- RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T.S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, v. 10, n. 14, p. 149-158, 2009.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas**. 6 ed. Londrina: Edição dos autores, 2011.
- SCHMIDT, R.O., SANA, R.S.; KRÜGER LEAL, F.; ANDREAZZA, R.; CAMARGO, F. A.O.; MEURER, E. J. Biomassa e atividade microbiana do solo em sistemas de produção olerícola orgânica e convencional. **Ciência Rural**, v.43, n.2, p.270-276, 2013.
- STECKEL, G.J.; HART, S.E.; WAX, L.M. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. **Weed Science**, v. 45, p. 378-381, 1997.
- SWEENEY, J. A.; JONES, M. A. Glufosinate tolerance of multiple WideStrike and Liberty-Link Cotton (L.) cultivars. **Crop Science**, v. 55, n. 1, p. 403-410, 2015.
- TAYEB, M. A., ISMAIL, B. S., KHAIRIATUL-MARDIANA, J. Runoff of the herbicides triclopyr and glufosinate ammonium from oil palm plantation soil. **Environmental monitoring and assessment**, v.189, n.11,p. 551, 2017.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2017. **Agricultural Export Opportunities in Brazil**. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/sites/default/files/2017-09/2017-09_iatr_brazil_0.pdf>. Acessado em: 20 out. 2017.

VARGAS, L.; NOHATTO, M. A.; AGOSTINETTO, D.; BIANCHI, M. A.; PAULA, J. M.;
POLIDORO, E.; TOLEDO, R. E. Práticas de manejo e a resistência de *Euphorbia*
heterophylla aos inibidores da ALS e tolerância ao glyphosate o Rio Grande do Sul.
Planta Daninha, v. 31, n. 2, p. 427-432, 2013.

2. EFICÁCIA E SELETIVIDADE DE GLUFOSINATO DE AMÔNIO NA CULTURA DA SOJA

RESUMO

A soja tolerante ao glufosinato de amônio (Liberty Link®) foi lançada no Brasil na safra 2016/17, com pouco conhecimento de seu desempenho agrônomo nas condições do país. O objetivo foi avaliar o sistema de produção envolvendo a soja Liberty Link®, comparando-a com sistemas já utilizados. Para isso, foi desenvolvido experimento em campo na safra 2016/2017, através de delineamento experimental aleatorizado em blocos em esquema fatorial 3x2+2, sendo três cultivares (convencional, tolerante ao glifosato ou glufosinato de amônio), dois manejos de plantas daninhas (com e sem capina) e dois tratamentos adicionais (glifosato a 1440 g e.a. ha⁻¹ ou glufosinato de amônio a 500 g i.a. ha⁻¹ + 0,5 L ha⁻¹ de óleo vegetal metilado) nos respectivos cultivares tolerantes. Adicionalmente, foi desenvolvido experimento inteiramente aleatorizado em casa de vegetação sobre seletividade dos herbicidas, nas mesmas doses e cultivares transgênicos do experimento em campo. Não houve diferença no controle de plantas daninhas e na produtividade (média de 3,1 t ha⁻¹) nos diferentes tratamentos. Foi possível verificar baixa intoxicação das plantas de soja após aplicação do glufosinato de amônio, com rápida recuperação ao longo dos experimentos. Pela representação de Draftsman foi possível observar que as espécies *Alternanthera tenella*, *Sorghum halepense*, *Physalis angulata* e *Parthenium hysterophorus* foram as que mais influenciaram na massa seca da comunidade infestante. O sistema de produção com glufosinato de amônio se mostrou similar ao sistema com glifosato, possibilitando outra opção de controle de plantas daninhas na cultura da soja, sem interferência na produtividade final dos grãos.

Palavras-chave: Culturas transgênicas; Plantas daninhas, Liberty Link®

ABSTRACT

The glufosinate-tolerant soybean (Liberty Link®) was launched in Brazil in the 2016/17 crop, with little knowledge of its agronomic performance in the country's conditions. The aim was to evaluate the production system involving Liberty Link® soybean, comparing it with already used systems. For this, a field experiment was carried out in the 2016/2017 crop, using a randomized experimental design in blocks in a 3x2 + 2 factorial scheme, with three cultivars (conventional, glufosinate-tolerant and glyphosate-tolerant), two weed management (with and without weeding) and two additional treatments (glyphosate 1440 g e.a. ha⁻¹ and ammonium glufosinate 500 g a.i. ha⁻¹ + 0.5 L of methylated vegetable oil ha⁻¹) in the appropriate tolerant cultivars. In addition, a completely randomized experiment was carried out under greenhouse conditions about herbicides selectivity, with the same doses and transgenic cultivars of the field experiment. There was no difference in weed control and soybean yield (mean of 3.1 t ha⁻¹) in the different treatments. It was possible to verify low intoxication of soybean plants after application of ammonium glufosinate, which did not persist throughout the experiments. By the representation of Draftsman it was possible to observe that the species *Alternanthera tenella*, *Sorghum halepense*, *Physalis angulata* and *Parthenium hysterophorus* were the ones that most influenced the weed community dry mass. The production system with glufosinate ammonium was similar to the glyphosate system, allowing another option to control weeds in the soybean crop, without interfering with the final grain yield.

Keywords: Transgenic cultures; Weed; Liberty Link®

2.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor e maior exportador de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) do mundo (USDA, 2017), com produção de 114.075,3 mil toneladas de soja na safra 2016/2017 (CONAB, 2017). Para manter esta posição de destaque no mundo, o país necessita de um sistema de produção eficiente e de custo compatível para manter sua competitividade no mercado internacional.

Dentre as componentes do custo de produção da soja, o manejo de plantas daninhas representa um dos principais componentes do custo de e perda de produção das culturas. Na cultura da soja no Brasil o manejo de plantas daninhas se tornou ainda mais relevante e dispendioso, já que, segundo Heap (2017), foi constatado o desenvolvimento de vários biótipos resistentes ao herbicida glifosato.

Isso se deve ao fato de que a utilização de cultivares tolerantes aos herbicidas vem sendo feita extensivamente durante as últimas cinco décadas, especialmente a soja Roundup Ready® (RR), desenvolvida pela Monsanto para ser tolerante ao herbicida glifosato, permitindo seu extenso uso no manejo das plantas daninhas. Nesse sentido, o glufosinato de amônio é uma alternativa de controle para aquelas biótipos resistentes ao glifosato (Latorre et al., 2013), como por exemplo o *Amaranthus palmeri* (Barnett et al., 2013).

O glufosinato de amônio é composto por dois isômeros óticos D e L, sendo que o isômero L-glufosinato atua como um potente inibidor da glutamina sintetase, enquanto o D-glufosinato não apresenta atividade herbicida, e não é metabolizado pelas plantas (Carbonari et al., 2016). O herbicida age por contato e por alteração do metabolismo amônico. No primeiro caso destrói os tecidos das folhas e no segundo, inibe a atividade da enzima GS (glutamina sintetase) responsável pela reação da amônia (NH₃) formada na célula com ácido glutâmico para a formação de glutamina, do que resulta aumento de concentração do NH₃ na célula e consequentemente morte desta (Coetzer e Al-Khatib, 2001; Dayan et al., 2015).

O herbicida é considerado de contato (não sistêmico), já que não tem significativa translocação na planta, promovendo controle de um largo espectro de plantas, seja eucotiledôneas ou mocotiledôneas, desde que seja aplicado nos primeiros estádios vegetativos das plantas (Creech et al., 2015).

Desse modo, no ano de 2010 a introdução de cultivares de soja geneticamente modificadas tolerantes ao herbicida amônio glufosinato, denominadas de Liberty Link® (LL), foi autorizada pela CTNBio. A soja Liberty Link® foi desenvolvida por meio de modificação genética específica inserindo na planta um gene que codifica uma proteína chamada fosfinotricina acetiltransferase (PAT), a qual catalisa a conversão de L-fosfinotricina (glufosinato de amônio) a produtos não tóxicos, inativando o ingrediente ativo e, assim, conferindo à planta a característica de tolerância ao herbicida. O gene PAT utilizado foi uma versão modificada do gene isolado da bactéria natural do solo, *Streptomyces viridochromogenes*, e foi inserido nas células vegetais utilizando o processo de transformação via biobalística (Dröge et al., 1992).

Culturas tolerantes ao glufosinato de amônio fazem com que o mesmo se torne uma nova opção de manejo após o estabelecimento do cultivo. Na cultura da canola tolerante ao glufosinato de amônio, por exemplo, as plantas da cultura foram prejudicadas quando a aplicação do herbicida (500 g i.a. ha⁻¹) ocorreu a partir de seis folhas, mas não demonstrando intoxicação em aplicações em estádios anteriores (Tozzi et al., 2016).

A adoção da soja Liberty Link® no Brasil é vagarosa, especialmente pelo fato de que a introdução é ainda recente. No entanto, a evolução de biótipos de plantas daninhas resistentes ao glifosato está levando os produtores a buscar tecnologias alternativas de resistência a herbicidas de plantas cultivadas (Aulakh e Jhala, 2015).

No centro-sul dos Estados Unidos, por exemplo, os produtores começaram a adotar a soja Liberty Link® como opção para controlar biótipos de *Amaranthus palmeri* resistentes a glifosato (Riar et al., 2013). De forma semelhante, no meio-oeste dos Estados Unidos, estima-se que a adoção dessa tecnologia seja em uma escala relativamente grande em um futuro próximo para manejo de plantas daninhas resistentes a glifosato, como *Amaranthus tuberculatus* e *Ambrosia trifida*, além de milho voluntário resistente ao glifosato, plantas as quais tem se constatado excelente controle pela aplicação de glufosinato de amônio (Chahal e Jhala 2015).

No entanto, o desempenho agrônômico e a eficiência da soja tolerante ao glufosinato de amônio no Brasil ainda não é totalmente conhecido, já que a tecnologia foi lançada comercialmente no país na safra 2016/17.

Desse modo, o objetivo foi avaliar o sistema de manejo de plantas daninhas na tecnologia de soja tolerante ao herbicida glufosinato de amônio, comparando-a com sistemas já utilizados.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Experimento realizado em campo

A cultura da soja foi semeada em 17 de outubro de 2016 (safra 2016/2017) em campo sob cultivo convencional, no qual o solo foi preparado com a utilização de grade e enxada rotativa.

No tratamento de sementes de soja foram utilizados os fungicidas carbendazin+thiram (30 +70 g i.a./ 100 kg de sementes) e o inseticida tiametoxam (70 g i.a./100 kg de sementes). Considerando-se que a área do experimento foi cultivada com soja na safra anterior à condução do trabalho, foi realizada inoculação no momento da semeadura com produto comercial Masterfix® (cepas SEMIA 5019 e SEMIA 5079, com concentração mínima de 5×10^9 unidades formadoras de colônias g^{-1}) na dose de 200 g de Masterfix® / 80 kg de sementes. A inoculação ocorreu com solução açucarada a 10% na dose de 300 mL / 50 kg de sementes, contribuindo com a adesão do inoculante turfoso à semente.

Na adubação de base, na semeadura, foi utilizado 200 kg ha^{-1} de NPK 4-20-20, resultando em 8 kg ha^{-1} de nitrogênio (N), 40 kg ha^{-1} de fósforo (P_2O_5) e 40 kg ha^{-1} de potássio (K_2O). A análise química e física do solo da área experimental pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1- Características físico-químicas do solo utilizado no experimento^a.

Camada de solo (cm)	pH (CaCl ₂)	M.O. (g dm ⁻³)	P (mg dm ⁻³)	K	Ca	Mg	H+Al (mmol _c dm ⁻³)	SB	CTC	V (%)	m	Argila	Silte	Areia
0-10	5,2	25	26	3,7	31	9	22	43,7	65,7	67	0	492	150	359
10-20	5,1	21	22	4,2	26	7	22	37,2	59,2	63	0	519	136	345

^a Análises realizadas pelo Laboratório de Análises de Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Iso.lab@usp.br; SB = soma de bases trocáveis; CTC = capacidade de troca de cátions; V= saturação da CTC por bases; m = saturação por alumínio; M.O.= matéria orgânica

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições e em esquema fatorial 3x2 com dois tratamentos adicionais, com três cultivares de soja e dois manejos das plantas daninhas (com ou sem capina). Os tratamentos adicionais foram constituídos da aplicação de glifosato em cultivar de soja tolerante a esse herbicida (soja RR), e a aplicação de glufosinato de amônio em cultivar de soja tolerante ao mesmo (soja LL), sendo que os tratamentos podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos que foram aplicados no experimento em campo^a

Tratamentos	Cultivar	Aplicação em pós-emergência V3
1	Soja Convencional	Tratamento mantido com capina
2	Soja Convencional	Tratamento mantido sem capina
3	Soja LL	Tratamento mantido com capina
4	Soja LL	Tratamento mantido sem capina
5	Soja RR	Tratamento mantido com capina
6	Soja RR	Tratamento mantido sem capina
7	Soja LL	Glufosinato de amônio (500 g i.a. ha ⁻¹) + 0,5 L ha ⁻¹ de óleo vegetal metilado
8	Soja RR	Glifosato (1.440 g e.a. ha ⁻¹)

^a RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; V3 = segunda folha trifoliolada completamente desenvolvidas (Fehr e Caviness, 1977).

O herbicida glifosato utilizado se constituía da formulação com 480 g L⁻¹ de sal de isopropilamina de N -(fosfometil) glicina e 360 g L⁻¹ de equivalente ácido de N -(fosfometil) glicina (glifosato). A formulação de glufosinato de amônio utilizada foi a de 200 g L⁻¹ de glufosinato de amônio e 910 g L⁻¹ de outros ingredientes. Os herbicidas foram aplicados utilizando-se um pulverizador costal de pressão constante, pressurizado por CO₂, com pressão de 2,0 kgf cm⁻², com volume de calda de 200 L ha⁻¹. A barra de aplicação utilizada possuía quatro bicos separados em 50 cm entre si, totalizando 2 m. A aplicação foi feita a 50 cm de altura do alvo (comunidade infestante da área). No momento de aplicação a temperatura foi de 21,1 °C, a umidade relativa do ar de 82% e a velocidade do vento de 1,8 m s⁻¹.

O cultivar de soja convencional foi o BRS 232 (grupo de maturação 6,9); o cultivar de soja tolerante ao herbicida glifosato foi o W712 RR (grupo de maturação 7,1); enquanto que o cultivar de soja tolerante a glufosinato de amônio foi o CZ36B58LL com o grupo de maturação 6,5.

As parcelas contavam com 4,0 x 3,6 m (14,4 m²) e a área útil, de 3 x 2,7 m (8,1 m²), sendo o espaçamento entre linhas de 0,45 m, com densidade de 15 plantas por metro, com população estimada em 333 000 plantas ha⁻¹.

2.2.1.1 Avaliações de intoxicação da soja em condições de campo

As avaliações de intoxicação das plantas de soja pelos tratamentos foram feitas de forma visual, utilizando-se uma escala de percentual de notas, em que 0 (zero) corresponde a nenhuma injúria demonstrada pelas plantas e 100 (cem) à morte das plantas (ALAM, 1974). Tais avaliações ocorreram aos 7, 14 e 28 dias após aplicação de herbicidas (DAA).

Os dados de intoxicação das plantas de soja foram submetidos a da análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$. Para isso, os dados de intoxicação das plantas de soja aos 7 DAA foram transformados somando-se 0,5; enquanto que para os dados de 14 e 28 DAA não foram necessárias transformações.

2.2.1.2 Avaliações do controle de plantas daninhas

As avaliações de eficácia dos tratamentos aplicados no manejo foram efetuadas aos 28 DAA considerando-se as quatro principais espécies infestantes da área, sendo elas *Alternanthera tenella* Colla (apaga-fogo), *Sorghum halepense* (L.) Pers. (capim-massambará), *Physalis angulata* L. (balão) e *Parthenium hysterophorus* L. (losna-branca). Para as espécies *Alternanthera tenella*, *Physalis angulata* e *Parthenium hysterophorus* as plantas apresentavam de duas a três folhas no momento da aplicação dos herbicidas, enquanto que *Sorghum halepense* apresentava de cinco a seis folhas. Essas avaliações foram realizadas visualmente mediante comparação com os tratamentos sem capina, estabelecendo-se porcentagens de controle.

Também aos 28 DAA foram identificadas e contabilizadas as 4 principais plantas daninhas citadas anteriormente. Essa avaliação foi feita mediante um quadrado de madeira com área de 0,25m², o qual foi lançado aleatoriamente na parcela duas vezes seguidas. Em cada uma dessas vezes as plantas daninhas dentro do quadrado foram identificadas e quantificadas. Feito isso, toda a comunidade infestante dentro do quadrado foi cortada rente ao solo e acondicionada em saco de papel, sendo levada à estufa por 3 dias à 72°C e, logo após a secagem, as massas secas foram pesadas.

Os dados de controle e massa seca de plantas daninhas foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$. Para tanto, os dados de massa seca de plantas daninhas foram transformados elevando-se a -0,1; enquanto que os dados de controle não precisaram de transformação.

Os dados de contabilização das espécies daninhas juntamente com a massa seca foram submetidos à análise estatística multivariada com representação de Draftsman. A representação de Draftsman de dados multivariados consiste na representação dos valores de cada variável contra os valores de cada uma das outras variáveis, sendo utilizada para demonstrar relação entre pares de variáveis (Manly, 2008).

2.2.1.3 Avaliações da produtividade da soja

A avaliação da produtividade foi feita por amostragem por parcela, colhendo os grãos de 2 metros de 4 linhas por parcela (3,6 m²). A umidade de grãos foi corrigida para 13% e estimado a produtividade equivalente em toneladas por hectare (t ha⁻¹).

Os dados de produtividade foram submetidos a da análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$. Para essa análise os dados de produtividade foram transformados os elevando a 0,1.

2.2.2 Experimento realizado em casa de vegetação

No mesmo período, foi desenvolvido experimento inteiramente casualizado com quatro repetições em condições de casa de vegetação sobre a seletividade dos herbicidas, com os mesmos herbicidas, doses e cultivares transgênicos do experimento realizado em campo, sendo possível observar os tratamentos na Tabela 3.

Tabela 3 - Descrição dos tratamentos que foram aplicados no experimento em casa de vegetação*

Tratamentos	Cultivar	Aplicação em pós-emergência V3
1	Soja LL	-
2	Soja RR	-
3	Soja LL	Glufosinato de amônio (500 i.a.g ha ⁻¹) + 0,5 L ha ⁻¹ de óleo vegetal metilado
4	Soja RR	Glifosato (1.440 g e.a. ha ⁻¹)

* RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; V3 = segunda folha trifoliolada completamente desenvolvidas (Fehr e Caviness, 1977).

Para aplicação dos tratamentos com herbicidas utilizou-se um pulverizador costal de pressão constante, pressurizado por CO₂, com pressão de 2,0 kgf cm⁻², com volume de calda de 200 L ha⁻¹. Tal aplicação foi realizada com barra de pulverização com um bico, sendo realizada a 50 cm de altura do alvo (plantas de soja). No momento de aplicação a temperatura foi de 21,1 °C, a umidade relativa do ar de 82% e a velocidade do vento de 1,8 m s⁻¹.

Os cultivares foram semeados em vasos com capacidade de cinco litros preenchidos com substrato, mantendo-se duas plantas por vaso. Foi realizada adubação dos vasos anterior a semeadura, resultando ao equivalente de 8 Kg ha⁻¹ de nitrogênio (N) 40 kg ha⁻¹ de fósforo (P₂O₅) e 40 kg ha⁻¹ de potássio (K₂O).

Foram realizadas avaliações de intoxicação das plantas de soja pelos diferentes tratamentos aos 7, 14 e 28 dias após aplicação de herbicidas (DAA). As avaliações foram

feitas de forma visual, utilizando-se uma escala de percentual de notas, em que 0 (zero) corresponde a nenhuma injúria demonstrada pelas plantas e 100 (cem) à morte das plantas.

Os dados dessas avaliações de intoxicação foram submetidos a da análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$.

2.2.1.3 Avaliações de intoxicação da soja em casa de vegetação

As aplicações dos herbicidas ocorreram logo após a aplicação em campo, sendo a temperatura elevada para 23°C, enquanto que todas as outras condições de pulverização foram iguais à aplicação em campo.

A avaliação da seletividade foi feita conforme experimento em campo, utilizando-se escala de percentual de nota (ALAM, 1974), sendo que as avaliações ocorreram aos 7, 14 e 28 Dias Após Aplicação (DAA).

Os dados de controle e massa seca de plantas daninhas foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Seletividade de glufosinato de amônio na cultura da soja

Em experimento de campo, houve baixa intoxicação (5,5%) das plantas de soja pela aplicação do glufosinato de amônio aos 7 após aplicação de herbicidas (DAA), o que pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 – Intoxicação das plantas de soja aos 7 Dias Após Aplicação (DAA).

Método	Cultivares		
	Convenional	RR	LL
Sem capina	0 aA	0 aA	0 aA
Com capina	0 aA	0 aA	0 aA
Adicionais		0 aA	5,5 bB
F(Variedade)=3,87ns F(Método)=9667393,3* F(Variedade x Método)=5,04ns			
Média = 0,71% C.V(%) = 0,07			

*significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ns: não significativo;); Os dados aqui apresentados são os originais, sendo que para análise estatística foram transformados somando-se 0,5; C.V.: coeficiente de variação; RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; Adicionais: aplicação de glifosato ou glufosinato de amônio. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Porém, tal resultado acarretou em diferença estatística entre esse tratamento e todos os outros, já que nos demais não houve constatações de injúrias. Dentre esses, destaca-se que a aplicação de glifosato em soja tolerante a esse herbicida não resultou em nenhum sintoma de intoxicação. Aos 14 e 28 DAA, nenhum dos tratamentos apresentou sintomas de intoxicação, caracterizando os sintomas verificados aos 7 DAA pela aplicação de glufosinato de amônio como não persistentes.

No experimento de seletividade dos herbicidas em condições de casa de vegetação pode-se observar alguma intoxicação das plantas da soja do cultivar tolerante ao glufosinato de amônio aos 7DAA (8,75%) e aos 14 DAA (5%), enquanto que os cultivares tolerantes ao glifosato e com aplicação do mesmo não apresentou sintomas de intoxicação. Aos 28 DAA nenhum tratamento mostrou sintomas de intoxicação.

Algumas diferenças na tecnologia soja tolerante ao glufosinato de amônio, como a tolerância da cultura ser por metabolismo (CNTBio, 2010) e a necessidade de adição de óleo vegetal à calda de aplicação, podem ter acarretado nos sintomas apresentados em ambos os experimentos de campo e casa de vegetação, muito embora sejam sintomas pouco significativos e com rápida recuperação da cultura. Ademais, no estudo em campo foi possível observar que a aparição de sintomas pela aplicação de glufosinato de amônio + óleo vegetal metilado não interferiu na produtividade, ressaltando a influência não significativa dessas injúrias para a cultura de soja tolerante ao glufosinato de amônio.

Beyers et al. (2002) obtiveram resultados semelhantes, observando injúrias na soja tolerante ao herbicida glufosinato em torno de 10% e 1% duas e quatro semanas após aplicação e glufosinato, respectivamente, mesmo sem o uso de adjuvantes. Já Landry et al.

(2016), não observaram nenhuma injúria na soja tolerante ao glufosinato de amônio, com aplicação de doses iguais ou maiores do que aplicados nesse estudo mas sem o uso do óleo vegetal metilado. Todos esses resultados demonstram segurança do uso do sistema Liberty Link® na cultura da soja.

A produtividade média da soja foi de 3,1 t ha⁻¹ e não houve diferenças entre os tratamentos, ressaltando que não houve intoxicação das plantas de soja que influenciasse a produtividade final. Isso reforça o uso seguro da tecnologia de soja tolerante ao glufosinato de amônio. Owen et al. (2010) encontraram resultados parecidos ao avaliar que os cultivares de soja tolerantes ao glufosinato de amônio ou ao glifosato não apresentaram diferenças na produção com a aplicação única ou dupla de glufosinato (450 g i.a. ha⁻¹) ou glifosato (860 g e.a. ha⁻¹).

Em contraste, Loux et al. (2017) constataram menor produtividade de soja quando aplicado glufosinato de amônio em cultivar tolerante ao herbicida, em comparação à aplicação de glifosato em soja tolerante ao mesmo. No entanto, isso pode ser decorrente de uma série de fatores, como por exemplo, dos cultivares, já que os autores atribuíram a diferença de produtividade ao maior potencial produtivo do cultivar de soja tolerante ao glifosato do que o cultivar tolerante ao glufosinato e amônio. Similar ao presente estudo, os autores ainda relataram que ambos os herbicidas promoveram igual controle de plantas daninhas.

2.3.2 Eficácia do glufosinato de amônio na cultura da soja

Não houve diferenças estatísticas no controle de *Alternanthera tenella* e *Sorghum halepense* quando aplicado glufosinato de amônio ou glifosato, o que pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5 - Controle (%) de *Alternanthera tenella* e *Sorghum halepense* nos diferentes tratamentos aos 28 Dias Após Aplicação (DAA).

Método	<i>Alternanthera tenella</i>			<i>Sorghum halepense</i>		
	Cultivar			Cultivar		
	Convencional	RR	LL	Convencional	RR	LL
Sem capina	0 bA	0 cA	0 cA	0 bA	0 cA	0 cA
Com capina	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Adicionais		83,1 bA	83,7 bA		70 bA	62,6 bA
	F(Cultivar) = 0,05ns F(Método) = 16260,8* F(Cultivar x Método) = 0,12ns			F(Cultivar) = 17,67* F(Método) = 31430,4* F(Cultivar x Método) = 24,07*		
	Média = 57,35 C.V.(%) = 5,51			Média = 53,32 C.V.(%) = 4,11		

*significativo pelo teste F (p < 0,01); ns: não significativo; C.V.: coeficiente de variação; RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; Adicionais: aplicação de glifosato ou glufosinato de amônio. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,01).

As aplicações de glufosinato de amônio e glifosato resultaram em controle por volta de 83% para *A. tenella*, demonstrando que tais herbicidas são boas opções de controle para essa espécie, muito embora esse resultado ainda seja estatisticamente diferente daquele com capina onde há total controle (100%).

Para *S. halepense* pode-se atribuir o controle por volta de 60 a 70% pelos dois herbicidas (sem diferenças estatísticas) devido à espécie se apresentar com cinco a seis folhas no momento da aplicação, o que a torna naturalmente mais tolerante aos herbicidas em questão, especialmente devido ao fato de que a aplicação de glufosinato de amônio é recomendada pelo fabricante nos estádios iniciais das plantas para adequado controle das mesmas (Steckel et al., 1997). Johnson et al. (2014) também observaram controle dessa espécie por volta de 60% nas doses de 500, 600 ou 700 g i.a. de glufosinato ha⁻¹ aos 28 dias após aplicação dos mesmos. Já Landry et al. (2016) encontraram controle de 79% aos 20 dias após aplicação de 500 g i.a. de glufosinato de amônio ha⁻¹, e valores ainda maiores em doses mais altas, porém, a aplicação ocorreu em plantas mais jovens do que as do presente estudo.

Também não foram verificadas diferenças estatísticas no controle de *Physalis angulata* e *Parthenium hysterophorus* quando aplicado glufosinato de amônio ou glifosato, o que pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6 - Controle (%) de *Physalis angulata* e *Parthenium hysterophorus* nos diferentes tratamentos aos 28 Dias Após Aplicação (DAA).

Método	<i>Physalis angulata</i>			<i>Parthenium hysterophorus</i>		
	Cultivar			Cultivar		
	Convencional	RR	LL	Convencional	RR	LL
Sem capina	0 bA	0 cA	0 cA	0 bA	0 cA	0 cA
Com capina	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Adicionais		83,5 bA	87,5 bA		90,5 bA	87,5 bA
	F(Cultivar) = 1,48ns F(Método) = 9693,5* F(Cultivar x Método) = 1,92ns			F(Cultivar) = 0,85ns F(Método) = 10118,5* F(Cultivar x Método) = 1,14ns		
	Média= 58,87 C.V(%) = 7,11			Média=58,64 C.V(%) = 4,07		

*significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ns: não significativo; C.V.: coeficiente de variação; RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; Adicionais: aplicação de glifosato ou glufosinato de amônio. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Embora menor que nos tratamentos com capina, que obtiveram total controle (100%), as aplicações de glifosato ou glufosinato em *Physalis angulata* e *Parthenium hysterophorus* obtiveram controle acima de 80%, sendo esses herbicidas considerados boas ferramentas de manejo para essas espécies. Para *P. hysterophorus* a aplicação de glufosinato de amônio (281

g i.a. ha⁻¹) promoveu por volta de 90% de controle 3 semanas após aplicação (Fernandez et al., 2015), sendo que Reddy et al. (2007) encontrou valores entre 80 e 90%, ambos muito semelhantes ao que ocorreu no presente estudo.

A massa seca da comunidade infestante foi drasticamente diferente nos tratamentos em que houve controle mecânico de plantas daninhas (capina) e químico (aplicações de glifosato e glufosinato de amônio), como pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7 - Massa seca (g) da comunidade infestante da cultura da soja aos 28 Dias Após Aplicação (DAA).

Método	Cultivar		
	Convencional	RR	LL
Sem capina	15,2 aA	14,1 aA	13,6 aA
Com capina	0 bA	0 cA	0 cA
Adicionais		1,2 bA	1,8 bA
F(Cultivar) = 1,10ns F(Método) = 393,42* F(Cultivar x Método) = 1,09ns			
Média = 5,75 C.V(%) = 4,02			

*significativo pelo teste F ($p < 0,01$); Os dados aqui apresentados são os originais, sendo que para análise estatística foram transformados elevando-se a - 0,1; C.V.: coeficiente de variação; RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; Adicionais: aplicação de glifosato ou glufosinato de amônio. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Novamente, as aplicações dos dois diferentes herbicidas resultaram em igual redução da comunidade infestante, isso reforçado pelo fato de que os valores da massa seca foram estatisticamente iguais nesses tratamentos.

Pela representação de Draftsman (Figura 1) foi possível observar que as espécies *A. tenella*, *P. angulata* e *P. hystrophorus* foram as que mais influenciaram na massa seca da comunidade infestante da cultura, já que houve forte correlação entre a contagem dessas espécies e a massa seca.

Figura 1 – Representação de Draftsman da massa seca de plantas daninhas (g) correlacionado com contagem das espécies de plantas daninhas (em unidades): (A) *Alternanthera tenella*; (B) *Sorghum halepense*; (C) *Physalis angulata* e (D) *Parthenium hysterophorus*.

A correlação positiva dessas espécies com a massa seca da comunidade infestante pode ser entendida pelo fato de que o círculo em volta dos dados dispersos no gráfico mostra forte tendência linear positiva, ou seja, quanto maior o número de indivíduos dessas espécies, maior o peso da massa seca. Isso indica que essas espécies de plantas daninhas realmente eram as principais infestantes da área, mostrando a relevância da verificação do controle dessas plantas pelos diferentes herbicidas, como já aqui apresentados.

Em campo, pode-se observar que *P. angulata* possuía grande comprimento e acúmulo de massa vegetal, desse modo, mesmo com menor quantidade de plantas, foi a que mais se correlacionou com a massa seca da comunidade infestante.

Nesse sentido, Betemps et al. (2014) verificaram que *Physalis peruviana* semeada em setembro (Pelotas, Rio Grande do Sul) resultam em plantas mais altas e maior quantidade de frutas, sendo que Lima et al. (2010) verificaram que temperaturas altas (30°C) favoreceram o crescimento vegetativo de *P. peruviana*, o que possivelmente ocorreu neste trabalho, já que a

época e local do desenvolvimento do experimento é caracterizada por altas temperaturas durante o ciclo da cultura.

Em seguida, as espécies que mais se correlacionaram à massa seca foram *A. tenella* e *P. hysterophorus*. A primeira apresentou grande número de plantas contabilizadas, assim como Canossa et al. (2008) afirmam, *A. tenella* tem grande relevância na agricultura devida a sua rápida disseminação e alta densidade de infestação, explicando sua correlação com a massa seca da comunidade infestante. Já *P. hysterophorus*, mesmo mostrou correlação significativa com a massa seca, o que demonstra sua importância na área experimental mesmo com poucas unidades, indicando grande acúmulo de massa por plantas dessa espécie nas condições desse estudo. *P. hysterophorus* é uma espécie C3-C4 intermediária, fazendo com que se caracterize pelo desenvolvimento e crescimento durante todo o ano em locais com temperaturas quentes (Pandey et al., 2003), como é o caso.

Embora *S. halepense* seja correlacionado com a massa seca, ela é menos significativa que àquelas observadas nas espécies anteriores. Mesmo se constituindo em uma espécie agressiva, especialmente devido aos seus rizomas com grande capacidade de propagação, na área estudada, a sua significância na massa seca da comunidade infestante é menor que a das outras espécies.

A avaliação da nova tecnologia de soja tolerante ao glufosinato de amônio, comparando-a com sistemas já utilizados, permitiu verificar que a mesma se mostra similar a tecnologia de tolerância ao glifosato. Tal semelhança se encontra no controle de plantas daninhas, desde que o glufosinato de amônio seja aplicado nos estágios iniciais da planta. Quanto a produtividade, não foi verificada diferenças entre a aplicação dos herbicidas. Isso demonstra a possibilidade de outra opção eficiente no manejo de plantas daninhas na cultura da soja e sem interferência na produtividade final dos grãos.

REFERÊNCIAS

- Aulakh J.S., Jhala A.J. Comparison of glufosinate-based herbicide programs for broad-spectrum weed control in glufosinate-resistant soybean. **Weed Technology**. 2015; 29(3): 419-430.
- Asociation Latinoamericana De Malezas (ALAM). Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación em ensayos de control de malezas. **ALAM**. 1974; 1: 35-38.

- Barnett K.A. et al. Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) control by glufosinate plus fluometuron applied postemergence to WideStrike® cotton. **Weed Technology**. 2013; 27:291–297.
- Beyers J.T.R., Smeda J., Johnson W.G. Weed management programs in glufosinate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**. 2002; 16: 267–273.
- Canossa R.S. et al. Temperatura e luz na germinação das sementes de apaga-fogo (*Alternanthera tenella*). **Planta Daninha**. 2008; 26:745-50.
- Carbonari C.A. et al. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**. 2016; 243: 925-933.
- Chahal G.S., Johnson W.G. Influence of glyphosate or glufosinate combinations with growth regulator herbicides and other agrochemicals in controlling glyphosate-resistant weeds. **Weed Technology**. 2012; 26(4): 638–643.
- Coetzer E., Al-Khatib K. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in Palmer amaranth after glufosinate application. **Weed Science**. 2001; 49:454–459.
- Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). 2017. **Brasil Grãos - Série Histórica de Área, Produção e Produtividade: Safras 1976/77 a 2016/17**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2>>. Acesso em: 20 out. 2017.
- Creech C. F. et.al. Performance of postemergence herbicides applied at different carrier volume rates. **Weed Technology**. 2015; 29: 611-624.
- Dayan F.E. et al. Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. **Weed Science**. 2015; 63:23–63.
- Dröge W., Broer I., Pühler A. Transgenic plants containing the phosphinothricin-N-acetyltransferase gene metabolize the herbicide L-phosphinothricin (glufosinate) differently from untransformed plants. **Planta**. 1992; 187:142-151.
- Fehr W.R., Caviness C.E. **Stages of soybean development**. Special Report. 87. Yowa: Yowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p.
- Fernandez, J.V. et.al. Confirmation, Characterization, and Management of Glyphosate-Resistant Ragweed Parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.) in the Everglades Agricultural Area of South Florida. **Weed technology**. 2015; 29:233-242.
- Heap, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: www.weedscience.org Acesso em: 20 de out. 2017.

- Johnson D.B., Norsworthy J.K., Scott R.C. Johnsongrass (*Sorghum halepense*) management as influenced by herbicide selection and application timing. **Weed Technology**. 2014; 28: 142– 150.
- Landry R.L., Stephenson D.O., Woolam B.C. Glufosinate Rate and Timing for Control of Glyphosate-Resistant Rhizomatous Johnsongrass (*Sorghum halepense*) in Glufosinate-Resistant Soybean. **International Journal of Agronomy**. 2016; 2016:6.
- Latorre D.D.O. et al. Herbicidas Inibidores da Glutamina Sintetase/Herbicide Inhibitors Glutamine Synthetase I. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**. 2013; 7: 134-141.
- Lima C.S.M. et al. Sistemas de tutoramento e épocas de transplante de physalis. **Ciência Rural**. 2010; 40:1-8.
- Loux M.M. et al. Influence of Cover Crops on Management of *Amaranthus* Species in Glyphosate- and Glufosinate-Resistant Soybean. **Weed Technology**. 2017; 31:487–495.
- Manly B.J.F. **Multivariate Statistical Methods**. 3th ed. 2008. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC, 2008. 41p.
- Monquero P.A. Plantas Transgênicas Resistentes aos Herbicidas: situação e perspectivas. **Bragantia**. 2005; 64:517-531.
- Owen M.D.K. et al. Comparisons of genetically modified and non-genetically modified soybean cultivars and weed management systems. **Crop science**. 2010; 50: 2597.
- Pandey D.K., Palni L.M.S., Joshi S.C. Growth, reproduction, and photosynthesis of ragweed parthenium (*Parthenium hysterophorus*). **Weed Science**. 2003; 51:191–201.
- Reddy K.N., Bryson C.T., Burke I.C. Ragweed parthenium (*Parthenium hysterophorus*) control with preemergence and postemergence herbicides. **Weed Technology**. 2007; 21:982–986.
- Riar D.S., Norsworthy J.K., Steckel L.E., Stephenson IV D.O., Eubank T.W., Scott R.C. Assessment of weed management practices and problem weeds in the midsouth United States—soybean: a consultant's perspective. **Weed technology**. 2013; 27(3):612-622.
- Ronchi, C.P. et al. Manejo de plantas daninhas na cultura do tomateiro. **Planta daninha**. 2010; 28:215-228.
- Steckel G.J., Hart S.E., Wax L.M. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. **Weed Science**. 1997; 45:378–381.
- Tozzi E., Harker K.N., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Strelkov S.E., Willenborg, C.J. Response of glufosinate-resistant canola to late applications of glufosinate. **Agronomy Journal**. 2016; 108(1): 358-364.

United States Department of Agriculture (USDA). 2017. **Agricultural Export Opportunities in Brazil**. Disponível em: https://www.fas.usda.gov/sites/default/files/2017-09/2017-09_iatr_brazil_0.pdf. Acessado em: 20 out. 2017.

3. IMPACTO DO USO DO GLUFOSINATO DE AMÔNIO NA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E NODULAÇÃO EM PLANTAS DE SOJA TOLERANTES AO HERBICIDA

RESUMO

O uso de glufosinato de amônio na cultura de soja tolerante a esse herbicida (Liberty Link®) é pouco conhecido quanto ao impacto na simbiose da planta com micro-organismos do solo. O objetivo foi avaliar o impacto desse uso do glufosinato na soja Liberty Link® sobre a micorrização, nodulação e produtividade, além de comparar com outros sistemas utilizados. Para isso, foi desenvolvido experimento em campo, em que foram avaliadas a nodulação e colonização micorrízica arbuscular em diferentes cultivares de soja (convencional, tolerante ao glifosato ou glufosinato de amônio) e diferentes manejos de plantas daninhas (com e sem capina, aplicação de 1440 g e.a. ha⁻¹ de glifosato e 500 g i.a. ha⁻¹ de glufosinato de amônio + 0,5 L ha⁻¹ de óleo vegetal metilado). Também foi desenvolvido experimento em condições de casa de vegetação e em laboratório, avaliando a presença de glufosinato de amônio e glutamato em soja tolerante ou não ao glufosinato de amônio. Não houve diferença entre os tratamentos quando à nodulação. Não se verificou influência da nodulação e micorrização sobre a produtividade, embora a colonização micorrízica tenha sido significativamente menor na soja tolerante ao glufosinato com aplicação desse herbicida. Não foi constatada a presença de glufosinato ou glutamato nas raízes para que justificasse essa diminuição da colonização micorrízica. O uso de glufosinato em soja Liberty Link®, em comparação com outros sistemas utilizados, demonstrou ser seguro em condições nutricionais adequadas como ocorreu nesse estudo, apenas é alertado sobre seu possível impacto negativo na colonização micorrízica arbuscular.

Palavras-chave: Impacto ambiental; Microbiologia do solo; Culturas transgênicas; Liberty Link®

ABSTRACT

The use of ammonium glufosinate in herbicide-tolerant soybean (Liberty Link®) is little known about the impact on plant symbiosis with soil microorganisms. The aim was to evaluate the impact of this use of glufosinate in Liberty Link® soybean on mycorrhizal, nodulation and productivity, in addition to comparing with other systems used. For this, a field experiment was carried out in a commercial production of the crop, in which nodulation and arbuscular mycorrhizal colonization were evaluated in different soybean cultivars (conventional, tolerant to glyphosate or ammonium glufosinate) and different weed management (with and without weeding, application of 1440 g of glyphosate a.e. ha⁻¹ or 500 g of ammonium glufosinate a.i. of ha⁻¹ + 0.5 L of methylated vegetable oil ha⁻¹). An experiment was also carried out in a greenhouse and laboratory conditions, evaluating the presence of ammonium glufosinate in the root system of soybeans tolerant or not to ammonium glufosinate. There was no nodulation difference among treatments. There was no influence of nodulation and mycorrhization on productivity, although mycorrhizal colonization was significantly lower in glufosinate tolerant soybean with application of this herbicide. It was not observed the presence of glufosinate or glutamate in the roots to justify this decrease of mycorrhizal colonization. The use of glufosinate in soybean Liberty Link®, compared to other systems used, has been shown to be safe under adequate nutritional conditions as occurred in

this study, it is only alerted to its possible negative impact on arbuscular mycorrhizal colonization.

Keywords: Environmental impact; Soil microbiology; Transgenic crops; Liberty Link®

3.1 INTRODUÇÃO

O glufosinato de amônio se liga irreversivelmente à glutamina sintetase (GS), competindo com glutamato pelo mesmo sítio de ação, inibindo assim a formação de glutamina (Manderscheid e Wild, 1986). Tal processo acarreta no acúmulo de amônia o que leva à intoxicação das plantas.

O herbicida é considerado um produto de contato, ou seja, com translocação limitada dentro da planta, apresentando eficiente controle pela sua aplicação em amplo espectro de plantas daninhas, no entanto sua aplicação deve ser feita com as plantas daninhas em estádios vegetativos iniciais (Creech et al., 2015). Esse herbicida tem sido recomendado para o manejo de plantas daninhas resistentes ao glifosato (Latorre et al., 2013).

No Brasil, várias espécies de planta daninha desenvolveram resistência ao glifosato, o que se constitui em um grande desafio para os agricultores, especialmente os produtores de soja, já que muitas das biótipos resistentes no Brasil, segundo Heap (2017), foram relatadas em campos de produção dessa cultura. Isso se deve ao uso intensivo de glifosato em culturas tolerantes a esse herbicida (Sweeney e Jones, 2015), o que gerou a necessidade de alternativas de manejo.

Em 2010, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) autorizou a introdução de cultivares de soja geneticamente modificadas tolerantes ao herbicida glufosinato de amônio no Brasil, denominadas de Liberty Link®. A soja tolerante ao glufosinato de amônio foi desenvolvida através de uma modificação genética específica inserindo na planta o gene PAT, responsável pela síntese da fosfinotricina acetiltransferase (PAT), a qual catalisa a conversão de L-fosfinotricina (glufosinato de amônio) a produtos não tóxicos conferindo à planta a característica de tolerância por metabolização do herbicida (Dröge et al., 1992).

No entanto, ainda não é totalmente conhecido os possíveis efeitos negativos da aplicação do glufosinato de amônio na cultura da soja no Brasil, de forma seletiva condicional e em pós-emergência da cultura, sobre as simbioses da cultura. Esse fato deve-se a introdução muito recente dos sistemas de produção com soja tolerante ao glufosinato de amônio, safra 2016/17.

A associação simbiótica das plantas de soja com a bactéria do gênero *Bradyrhizobium* é de fundamental para a produção final de grãos dessa leguminosa, já que dessa maneira a planta consegue suprir a maior parte de suas necessidades nutricionais em nitrogênio, por meio da fixação biológica do N_2 (Kondorosi et al., 2013).

A colonização das micorrizas arbusculares nas raízes de plantas é outra simbiose de extrema importância, influenciando a fertilidade do solo, decomposição, ciclagem de minerais e matéria orgânica, bem como a saúde e nutrição de plantas (Cely et al., 2016).

Entretanto, os efeitos da utilização de herbicidas sobre os organismos presentes no solo ainda são pouco conhecidos (Rosa et al., 2010), havendo trabalhos demonstrando efeitos negativos (Faria et al., 2014) e relatos em que não foram constatadas mudanças negativas (Powell et al., 2009; Reis et al., 2010) pela aplicação de herbicidas.

Nesse sentido, embora a translocação de glufosinato de amônio seja limitada, em espécies pouco ou muito insensíveis a esse herbicida, há relatos de alguma translocação para raízes (Steckel et al., 1997; Beriault et al., 1999), o que poderia resultar em algum efeito nas simbioses citadas.

Portanto, o objetivo foi avaliar o impacto da aplicação do herbicida glufosinato de amônio nas plantas tolerantes a esse herbicida sobre a micorrização, nodulação e produtividade, além de comparar com outros sistemas utilizados.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Condução da soja em campo

A semeadura da soja ocorreu na safra 2016/17 em solo cultivado na safra anterior também com soja. Na área do experimento foi realizado cultivo convencional, sendo que o solo foi preparado com a utilização de grade e enxada rotativa. As sementes foram inoculadas no momento da semeadura com produto comercial Masterfix® (cepas SEMIA 5019 e SEMIA 5079, com concentração mínima de 5×10^9 unidades formadoras de colônias g^{-1}) na dose de 200 g de Masterfix® / 80 kg de sementes. Para isso, foi utilizada solução açucarada a 10% na dose de 300 mL/50 kg de sementes, contribuindo com a adesão do inoculante turfoso às sementes.

No tratamento de sementes de soja foram utilizados os fungicidas carbendazin+thiram (30 + 70 g i.a./100 kg de sementes) e o inseticida tiametoxam (70 g i.a./100 kg de sementes).

Na adubação de base, na semeadura, foi utilizado 200 kg ha⁻¹ de NPK 4-20-20, resultando em 8 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), 40 kg ha⁻¹ de fósforo (P₂O₅) e 40 kg ha⁻¹ de potássio (K₂O). A análise química e física do solo da área experimental pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 4- Características físico-químicas do solo utilizado no experimento^a.

Camada de solo (cm)	pH (CaCl ₂)	M.O. (g dm ⁻³)	P (mg dm ⁻³)	K	Ca	Mg	H+Al (mmol _c dm ⁻³)	SB	CTC	V (%)	m	Argila	Silte	Areia
0-10	5,2	25	26	3,7	31	9	22	43,7	65,7	67	0	492	150	359
10-20	5,1	21	22	4,2	26	7	22	37,2	59,2	63	0	519	136	345

^a Análises realizadas pelo Laboratório de Análises de Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Iso.lab@usp.br; SB = soma de bases trocáveis; CTC = capacidade de troca de cátions; V= saturação da CTC por bases; m = saturação por alumínio; M.O.= matéria orgânica

O delineamento experimental foi aleatorizado em blocos com quatro repetições e em esquema fatorial 3x2 com dois tratamentos adicionais, sendo 3 cultivares (convencional, tolerante ao glufosinato de amônio ou glifosato) e 2 manejos de plantas daninhas (com e sem capina). Os dois adicionais foram a aplicação de glifosato (1440 g e.a. ha⁻¹) ou glufosinato de amônio (500 g i.a. ha⁻¹ + 0,5 L ha⁻¹ de óleo vegetal metilado) nos devidos cultivares tolerantes e no estágio fenológico da soja V3.

O herbicida glifosato utilizado se constituía da formulação com 480 g L⁻¹ de sal de isopropilamina de N -(fosfonometil) glicina e 360 g L⁻¹ de equivalente ácido de N -(fosfonometil) glicina (glifosato). A formulação de glufosinato de amônio utilizada foi a de 200 g L⁻¹ de glufosinato de amônio e 910 g L⁻¹ de outros ingredientes. Os herbicidas foram aplicados utilizando-se um pulverizador costal de pressão constante, pressurizado por CO₂, pressão de 2,0 kgf cm⁻², volume de calda de 200 L ha⁻¹. A barra de aplicação utilizada possuía quatro bicos separados em 50 cm entre si, totalizando 2 m. A aplicação foi feita a 50 cm de altura do alvo (comunidade infestante da área). No momento de aplicação a temperatura do ar era de 21,1 °C, a umidade relativa do ar de 82% e a velocidade do vento de 1,8 m s⁻¹.

Os cultivares de soja utilizados foram: convencional BRS 232 (grupo de maturação 6,9); soja tolerante ao herbicida glifosato W712 RR (grupo de maturação 7,1); soja tolerante a glufosinato de amônio CZ36B58LL (grupo de maturação 6,5).

As parcelas foram de 4,0 x 3,6 m (14,4 m²), sendo o espaçamento entre linhas de 0,45 m, com densidade de 15 plantas por metro, resultando em população de 333 000 plantas ha⁻¹.

3.2.2 Avaliação da colonização micorrízica e nodulação

A produtividade foi avaliada por amostragem, colhendo-se os grãos de 2 metros de 4 linhas por parcela (3,6 m²). Após a colheita, a umidade dos grãos foi corrigida para 13% e estimado a produtividade equivalente em toneladas por hectare (t ha⁻¹).

Os dados de produtividade foram submetidos a da análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$. Para essa análise os dados de produtividade foram transformados os elevando a 0,1.

3.2.3 Avaliação da colonização micorrízica e nodulação

Quando as plantas de soja atingiram o estágio fenológico R2 (florescimento pleno, o que ocorreu 30 dias após aplicação dos herbicidas), foram coletadas cinco plantas de cada parcela para determinação da nodulação e da colonização micorrízica das raízes por fungos micorrízicos arbusculares nativos.

Para avaliação da nodulação, o sistema radicular das plantas foi extraído com auxílio de uma pá de corte, removendo-se um bloco de solo com aproximadamente 20 cm de profundidade no entorno das plantas, região onde se concentra a maior parte das raízes. Todo o volume de solo coletado e raízes das plantas foram lavados em água corrente sobre peneira com malha de 1,43 mm. Na estimativa da nodulação, os nódulos foram armazenados em embalagens de papel e submetidos à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C por 72 horas, dando origem aos dados de massa seca de nódulos.

Para avaliação da colonização micorrízica arbuscular, no momento da lavagem do sistema radicular em água corrente foi coletado parte das raízes da porção mediana do sistema radicular, colocando essa amostra em tubos do tipo Falcon com volume para 50 mL, os quais foram preenchidos com álcool 70%. As raízes foram descoradas em solução KOH 10%, e coradas pelo método de tinta e vinagre proposto por Vierheilig et al. (1998). Depois de limpas e descoradas, as raízes foram fervidas (95°C), durante pelo menos 3 minutos, na solução de coloração, a qual foi constituída por tinta de caneta 5% diluída em vinagre (ácido acético a 5%). Após a coloração, as raízes foram lavadas várias vezes durante mais de 20 minutos com água da torneira acidificada, a qual foi conseguida após adição de gotas de ácido acético à água. Desse modo, todas as estruturas fúngicas das micorrizas arbusculares contidas nas raízes foram coradas pela solução de coloração citada. Posteriormente, a colonização radicular por fungos micorrízicos foi avaliada pelo método da intersecção em placa reticulada (Giovannetti e Mosse, 1980).

Os resultados de nodulação e colonização micorrízica arbuscular foram submetidos a da análise de variância pelo teste F ($p < 0,01$), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey considerando $p < 0,01$. Para realizar as análises estatísticas, os dados de massa seca de nódulos foram transformados elevando-se a 1,9. Os dados de nodulação, colonização micorrízica e produtividade foram submetidos à análise estatística multivariada com representação de Draftsman.

A representação de Draftsman de dados multivariados consiste na representação dos valores de cada variável contra os valores de cada uma das outras variáveis, sendo utilizada para demonstrar relação entre pares de variáveis, esclarecendo e facilitando a visualização dessas correlações (Manly, 2008).

3.2.4 Avaliação do glufosinato de amônio e glutamato nas plantas de soja

As avaliações do glufosinato de amônio e glutamato na parte aérea e no sistema radicular das plantas de soja foram feitas a partir de um experimento desenvolvido em condições de casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado em esquema fatorial 2x2, sendo dois cultivares de soja, com ou sem aplicação de glufosinato de amônio. O experimento contou com quatro repetições, cujos tratamentos estão na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos que foram aplicados no experimento em casa de vegetação^a

Tratamentos	Cultivar	Aplicação em pós-emergência V3
1	Soja LL	-
2	Soja RR	-
3	Soja LL	Glufosinato de amônio (500 g i.a. ha ⁻¹) + 0,5 L ha ⁻¹ de óleo vegetal metilado
4	Soja RR	Glufosinato de amônio (500 g i.a. ha ⁻¹) + 0,5 ha ⁻¹ de óleo vegetal metilado

^a RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; V3 = segunda folha trifoliolada completamente desenvolvidas (Fehr e Caviness, 1977).

Os cultivares foram semeados em vasos de 0,25 litros de capacidade preenchidos com substrato, mantendo-se uma planta por vaso. O cultivar de soja tolerante a glufosinato de amônio foi a CZ6316LL, enquanto que a tolerante a glifosato foi a P31T77R.

Utilizou-se substrato comercial, sendo adicionados 0,6 g de fertilizante de liberação lenta, equivalente a 50 Kg ha⁻¹ de N; 30 kg ha⁻¹ de P₂O₅; 40 kg ha⁻¹ de K₂O; 20 kg ha⁻¹ de S; 4,3 kg ha⁻¹ de Mg; 0,2 kg ha⁻¹ de Mn; 0,16 kg ha⁻¹ de Zn; 0,16 kg ha⁻¹ de Fe; 0,16 kg ha⁻¹ de Cu; 0,07 kg ha⁻¹ de B; 0,07 kg ha⁻¹ de Mo.

Os herbicidas foram aplicados em câmara de aplicação, sendo a temperatura do ar 25°C, ausência de vento e volume de calda de 200 L ha⁻¹. Após 1 e 6 dias da aplicação (DAA), a parte aérea e sistema radicular das plantas foram coletados e separados para então realizar as análises em laboratório. O material vegetal coletado de cada uma das amostras foi armazenado em um ultrafreezer (-80°C) para posterior extração e quantificação do glufosinato de amônio e glutamato.

Para a extração dessas substâncias foi seguida metodologia de Carbonari et al. (2016), ou seja, as amostras foram moídas juntamente com nitrogênio líquido e, em seguida, foram pesados 200 mg de cada amostra e adicionados 10 mL de solução de metanol: água (75:25). Em seguida, foi realizada incubação de 30 minutos em banho ultra-sônico e centrifugação a 4000 g durante 10 min. Após a centrifugação, o sobrenadante passou por um filtro de 0,2 µm de nylon e colocado em um frasco para cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS).

O glufosinato de amônio e glutamato nas plantas foram analisados por cromatografia líquida e espectrometria de massa (LC-MS / MS), utilizando os equipamentos Proeminence UFLC, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão acoplado a um espectrômetro de massa quadrupolar triplo híbrido (3200 Q TRAP, Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Foi utilizada uma coluna cromatográfica Synergi 2,5 lm Fusion CY 100 Å, com acetato de amônio 25 mM em água (fase A) e 100% acetonitrila (fase B) como fases móveis e com um caudal de 0,5 mL min⁻¹. Não foi utilizado gradiente dos solventes (análise isocrática) com 70% B e 30% de A com fluxo de 0,15 mL min⁻¹.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Validação do método de cromatografia líquida e espectrometria de massa

Para a quantificação das substâncias nas amostras foram utilizadas curvas-padrão utilizando-se glufosinato de amônio e glutamato analítico (99,9% de pureza para ambas as substâncias). O tempo de execução foi de 15 minutos, e o tempo de retenção do composto na coluna cromatográfica foi de 5 minutos para glufosinato de amônio e 3,5 minutos para glutamato (Figura 1).

Figura 1 – Cromatograma de glufosinato de amônio e glutamato analítico (99,9% de pureza para ambas as substâncias).

Para glutamato, a equação da reta da curva-padrão é apresentado na Equação 1, sendo que seu o coeficiente de determinação (R^2) = 0,96 e faixa de linearidade entre 0,1 e 10 mM (ou 14,7 e 1471 mg). Ressalta-se também que o limite de quantificação (LQ) foi de 0,1 mM.

$$y = 156\,899,05x + 152\,659,14 \quad (1)$$

em que:

y: área do pico

x: glutamato em mM

Para glufosinato de amônio a equação da curva padrão é apresentada na Equação 2, sendo o coeficiente de determinação (R^2) = 0,94 e a faixa de linearidade entre 0,01 e 10 mM (ou 1,98 e 1982 mg). O limite de quantificação (LQ) para essa substância foi de 0,01mM.

$$y = 217\,326x + 201\,493,342 \quad (2)$$

em que:

y: área do pico

x: glufosinato de amônio em mM

3.3.2 Nodulação

Não houve diferença na massa seca de nódulos nas plantas de soja pela aplicação ou não dos diferentes herbicidas nos cultivares (Tabela 3).

Tabela 3 – Massa seca de nódulos (g) das plantas de soja em diferentes tratamentos e em pleno florescimento.

Método	Cultivar		
	Convencional	RR	LL
Sem capina	0,21	0,21	0,29
Com capina	0,21	0,24	0,22
Adicionais		0,16	0,13
F(Cultivar) = 1,07ns F(Método) = 1,54ns F(Cultivar x Método) = 6,31*			
Média = 0,21 C.V.(%) = 17,51			

*significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ns: não significativo; Os dados aqui apresentados são os originais, sendo que para análise estatística foram transformados elevando-se a 1,9; C.V.: coeficiente de variação; RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio; Adicionais: aplicação de glifosato ou glufosinato de amônio.

Em alguns estudos foi verificada redução da nodulação pela aplicação do glifosato (Kremer e Means, 2009), ou mesmo manutenção do número de nódulos, mas, diminuição de sua biomassa por diferentes formulações de sal de glifosato: sal de isopropilamina, trimetil-sulfônio, diamônio e aminometanamida dihidrogeno tetraoxossulfato (Reddy e Zablotowicz, 2003). Isso pode ocorrer devido ao efeito do herbicida em bactérias *Bradyrhizobium* spp., como acúmulo de ácido chiquímico e ácidos hidroxibenzóicos, embora haja sensibilidade variada entre as cepas (Drouin et al., 2010). Similar ao ocorrido no presente estudo, outros trabalhos não encontraram mudanças na nodulação pela aplicação do herbicida glifosato (Reis et al., 2014; Hungria et al., 2014).

Para glufosinato de amônio, no trabalho de Kriete e Broer (1996) a alfafa inoculada e resistente ao glufosinato quando em solo esterilizado, resultou em efeito negativo na nodulação, enquanto que em solo não esterilizado não houve mudanças significativas nessa variável. Os autores atribuíram esse fato à rápida degradação do herbicida no solo pela ação de micro-organismos, o que é provável que tenha acontecido no presente trabalho já que nenhum dos herbicidas aplicados resultou em redução da massa seca de nódulos (Tabela 3).

Glufosinato de amônio é considerado um herbicida de baixa toxicidade ao solo justamente pela fácil e rápida degradação pelos micro-organismos existentes nesse sistema. A presença de atividades enzimáticas específicas que podem ocorrer na microbiota do solo (L-aminoácido oxidase, enzimas de acetilação de fosfinotricina) conferem alguma resistência dos

micro-organismos ao herbicida (Allen-King et al., 1995; Gonzalez-Moro et al., 2000), o que também pode ter ocorrido no presente trabalho.

3.3.3 Colonização micorrízica arbuscular

Na avaliação de colonização micorrízica arbuscular (Tabela 4) foi observado menor colonização nas plantas de soja pela aplicação do glufosinato de amônio em soja tolerante a esse herbicida em comparação com todos os outros tratamentos.

Tabela 4 – Colonização micorrízica arbuscular (%) das plantas de soja em diferentes tratamentos e em pleno florescimento.

Método	Cultivar		
	Convencional	RR	LL
Sem capina	35,5 aA	35,4 aA	33,4 aA
Com capina	35,1 aA	33,9 aA	35,6 aA
Adicionais		33,4 aA	26,5 bB
F(Cultivar) = 6,90* F(Método) = 20,96* F(Cultivar x Método) = 8,74*			
Média = 33,59 C.V.(%) = 10,19			

*significativo pelo teste F ($p < 0,01$); C.V.: coeficiente de variação; Adicionais: aplicação de glifosato ou glufosinato de amônio; RR: cultivar tolerante ao glifosato; LL: cultivar tolerante ao glufosinato de amônio. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Nas duas avaliações, nodulação (Tabela 3) e colonização micorrízica (Tabela 4), foram encontrados diferentes efeitos do glufosinato de amônio, já que na massa seca de nódulos não houve diferença estatística entre os tratamentos, inclusive quando aplicado esse herbicida. Já na avaliação de colonização micorrízica arbuscular, pode ser observado menor porcentagem no tratamento em que foi aplicado glufosinato de amônio em soja tolerante ao mesmo. Isso ressalta que o impacto de herbicidas sobre a microbiologia do solo é bastante variável, especialmente em função do ambiente, da microbiologia do solo, da planta, do herbicida, das doses e quantidade de aplicações (Zablotowicz e Reddy, 2004; Fernandez et al., 2009).

Da mesma forma como ocorreu nesse trabalho, Reis et al. (2010) não encontraram redução da colonização micorrízica arbuscular na cultura de soja em condições de campo pela aplicação única ou sequencial de 1080 g e.a. de glifosato ha^{-1} . Em trabalho de Reis et al. (2014) também não foi encontrado redução micorrízica para a formulação de Roundup Original® (720 g e.a. ha^{-1}) em soja no campo, mas verificaram que as outras formulações, que possuíam adjuvantes em sua composição, reduziram a colonização micorrízica arbuscular no segundo ano de experimento.

No presente trabalho não foi utilizado adjuvante para a aplicação de glifosato, mas sim na aplicação de glufosinato de amônio, sendo nessa condição encontrado menor valor de

colonização micorrízica. No entanto, o principal efeito do adjuvante na planta é facilitar a entrada e consequente translocação na mesma, de modo que o glufosinato de amônio poderia estar presente nas raízes e afetar essa simbiose, sendo isso verificado na análise da presença de glufosinato de amônio e glutamato em plantas de soja suscetíveis ou não a esse herbicida.

A colonização micorrízica arbuscular é a associação simbiótica entre plantas e fungos que aumentam a absorção de fósforo do solo, estendendo a exploração do solo pelo sistema radicular (Armada et al., 2016; Castillo et al., 2016). Além do fósforo, a colonização micorrízica arbuscular tem também papel significativo na absorção de todos os nutrientes requeridos pela planta, além de colaborar contra a toxicidade de alumínio na rizosfera pela produção aumentada de exsudados (Seguel et al., 2016). Dessa forma, a menor colonização micorrízica poderia impactar negativamente nas plantas de soja tolerantes ao glufosinato de amônio e com a aplicação do mesmo. Assim, procederam-se as análises de impacto das simbioses estudadas (colonização micorrízica arbuscular e nodulação) nas produtividades de soja.

3.3.4 Impacto da nodulação e colonização micorrízica arbuscular na produtividade da soja

Na representação de Draftsman (Figura 2) é possível observar a relação entre os pares de variáveis (produtividade *versus* nodulação e colonização micorrízica arbuscular).

Figura 2 – Representação de Draftsman da produtividade (t ha⁻¹) correlacionado com: A - massa seca de nódulos (g) e B - colonização micorrízica arbuscular (%).

Os dados dispersos homogeneamente na Figura 2 indicaram que não houve correlação positiva ou negativa entre as variáveis em questão, sendo que se houvesse correlação o círculo pontilhado ao redor dos dados dispersos na figura indicaria uma tendência linear dos mesmos, o que não ocorre no presente estudo. Assim, não há correlação entre a produtividade de grãos de soja e a nodulação ou colonização micorrízica arbuscular, ou seja, tais variáveis não influenciaram a produtividade da cultura.

Como já citado, a principal contribuição constatada pela colonização micorrízica arbuscular de plantas é a maior absorção de nutrientes, especialmente fósforo, sugerindo que o adequado manejo nutricional que ocorreu no ciclo da cultura de soja, mitigou os efeitos dessa simbiose, fazendo com que sua influência sobre a produtividade fosse reduzida.

3.3.5 Glufosinato de amônio e glutamato na parte aérea e sistema radicular das plantas de soja

O glufosinato de amônio possui características físico-químicas que permitiriam a translocação do produto (Kleier, 1988), especialmente pelo fato de ser um ácido fraco e possuir alta solubilidade em água. Porém, a rápida e alta intoxicação no local aplicado impede seu movimento no floema da planta (Bromilow et al., 1993; Beriault et al., 1999).

No entanto, alguma translocação de glufosinato para as raízes pode ocorrer em situações de intoxicação reduzida, como nas aplicações em doses menores (Pline et al., 1999), em plantas resistentes ou em àquelas com sensibilidade reduzida a esse herbicida (Steckel et al., 1997; Beriault et al., 1999; Nolte et al., 2017).

A possível translocação do glufosinato de amônio para as raízes de soja tolerante a esse herbicida poderia justificar a menor colonização micorrízica nesses tratamentos como foi apresentado na Tabela 4. Assim, foram avaliados o glufosinato de amônio e o glutamato (um dos substratos da reação inibida pelo herbicida), nas plantas de soja tolerantes ou não ao glufosinato após aplicação de produto.

Após 1 ou 6 dias da aplicação do glufosinato de amônio não foi constatado existência desse herbicida na parte aérea ou sistema radicular das plantas de soja tolerantes ao glufosinato de amônio ou ao glifosato.

A ausência da observação do glufosinato de amônio nas folhas de soja possivelmente é devido a sua rápida metabolização. O herbicida é metabolizado pelas plantas em questão de horas (e até minutos) em plantas tolerantes ou não a esse herbicida (Carbonari et al., 2016). Também foi constatado em outras plantas tolerantes ao glufosinato de amônio rápido

metabolismo desse herbicida, como em milho (Ruhland et al., 2004) e canola (Ruhland et al., 2004; Beriault et al., 1999).

Foi verificado na soja tolerante ao glifosato, após 1 dia da aplicação de glufosinato de amônio, 3,26 mg de glutamato por g de massa fresca da parte aérea, sendo que em todos os outros tratamentos não foram verificados a presença de glutamato.

A aplicação do glufosinato em plantas suscetíveis resulta na inibição da ligação do glutamato à glutamina sintetase, já que o glufosinato de amônio se liga irreversivelmente a essa enzima. Assim, é verificado o aumento do teor do glutamato nessas condições (Carbonari et al., 2016), como ocorreu no estudo aqui apresentado.

Além disso, a não constatação de glutamato no sistema radicular das plantas (tolerantes ou não ao produto) indica que não houve efeito herbicida do glufosinato de amônio nas raízes, ressaltando a ausência de sua translocação para as raízes.

É importante ressaltar que foram observados os efeitos do L-glufosinato de amônio, enquanto que o D-glufosinato não foi verificado, já que o isômero L-glufosinato atua como um potente inibidor da glutamina sintetase, enquanto o D-glufosinato não apresenta atividade herbicida, e não é metabolizado pelas plantas.

O uso de glufosinato de amônio em soja tolerante a esse herbicida em comparação com outros sistemas amplamente utilizados demonstrou ser seguro, especialmente quanto a nodulação. Em condições nutricionais adequadas, como no presente estudo, a produtividade de soja com aplicação dos herbicidas glifosato e glufosinato de amônio foi semelhante. Embora esses resultados enfatizem a segurança da tecnologia de soja Liberty Link®, é necessário precaução quanto ao possível impacto negativo na colonização micorrízica arbuscular pela aplicação de glufosinato de amônio, já que isso poderia acarretar em impactos na produtividade em condições de estresses, especialmente o nutricional, fato que não ocorreu nesse trabalho.

REFERÊNCIAS

- Allen-King R.M., Butler B.J., Reichert B. Fate of the herbicide Basta-ammonium in the sandy, low-organic-carbon aquifer at CFB Borden, Ontario, Canada. **Journal of Contaminant Hydrology**. 1995; 18: 161–179.
- Armada E., López-Castillo O., Roldán A., Azcón R. Potential of mycorrhizal inocula to improve growth, nutrition and enzymatic activities in *Retama sphaerocarpa* compared

- with chemical fertilization under drought conditions. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. 2016; 16: 380–399.
- Beriault J.N., Horsman G.P., Devine M.D. Phloem transport of D, L-glufosinate and acetyl-L-glufosinate in glufosinate-resistant and-susceptible *Brassica napus*. **Plant Physiology**. 1999; 121:619 - 628.
- Bromilow R.H., Chamberlain K., Evans A.A. Phloem translocation of strong acids—glyphosate, substituted phosphonic and sulfonic acids—in *Ricinus communis* L. **Pesticide Science**. 1993; 37:39 – 47.
- Castillo C.G., Borie F., Oehl F., Sieverding E. Arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity: prospecting in Southern-Central zone of Chile. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. 2016; 16: 400–422.
- Carbonari C.A. et al. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**. 2016; 243: 925-933.
- Cely M.V. et al. Inoculant of arbuscular mycorrhizal fungi (*Rhizophagus clarus*) increase yield of soybean and cotton under field conditions. **Frontiers in microbiology**. 2016; 7: 1 – 9.
- Creech C.F. et.al. Performance of postemergence herbicides applied at different carrier volume rates. **Weed Technology**. 2015; 29: 611-624.
- Dröge W., Broer I., Pühler A. Transgenic plants containing the phosphinothricin-N-acetyltransferase gene metabolize the herbicide L-phosphinothricin (glufosinate) differently from untransformed plants. **Planta**. 1992; 187:142-151.
- Drouin P. et al. Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of Rhizobiaceae. **Journal of Environmental Science and Health Part B**. 2010; 45: 757-765.
- Faria A.T. et al. Efeitos de herbicidas na atividade da microbiota rizosférica e no crescimento da cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**. 2014; 30: 1024-1032.
- Fehr W.R., Caviness C.E. **Stages of soybean development**. Special Report. 87. Yowa: Yowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p.
- Fernandez G., Pitelli R., Cadenazzi M. Evolução de CO₂ e atividades enzimáticas em amostras de solo tratado com herbicidas. **Planta Daninha**. 2009; 27: 601-608.
- Giovannetti M., Mosse B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**. 1980; 84: 489-490.

- Gonzalez-Moro, M.B. et al. Effect of phosphinothricin herbicide on nitrogen metabolism in *Pinus radiata* and *Laccaria bicolor*. **Phyton-Horn**. 2000; 40: 71-78.
- Heap, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: www.weedscience.org Acesso em: 20 de out. 2017.
- Hungria M. et al. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in South America. In: Singh R. P., Shankar N., Jaiwal, P. K. (Ed.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston: Studium Press, TOLERANTE AO GLUFOSINATO DE AMÔNIO, 2006. p. 43-93.
- Kleier D.A. Phloem mobility of xenobiotics. I. Mathematical model unifying the weak acid and intermediate permeability theories. **Plant Physiology**. 1988; 86:803–810.
- Kondorosi E., Mergaert P., Kereszt A. A paradigm for endo-symbiotic life: cell differentiation of *Rhizobium* bacteria provoked by host plant factors. **Annual Review Microbiology**. 2013; 67: 611–628.
- Kremer R., Means, N. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. **European Journal of Agronomy**. 2009; 31: 153–161.
- Kriete G., Broer I. Influence of the herbicide phosphinothricin on growth and nodulation capacity of *Rhizobium meliloti*. **Applied microbiology and biotechnology**. 1996; 46: 580-586.
- Latorre D.D.O. et al. Herbicidas Inibidores da Glutamina Sintetase/Herbicide Inhibitors Glutamine Synthetase I. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**. 2013; 7: 134-141.
- Manderscheid R., Wild A. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. **Journal of Plant Physiology**. 1986; 123:135–142.
- Manly B.J.F. **Multivariate Statistical Methods**. 3th ed. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC, 2008. p.41.
- Nolte S.A. et al. Glufosinate Absorption, Translocation, and Metabolic Fingerprint Effects in *gdhA*-Transformed Tobacco. **Crop Science**. 2017; 57: 350-364.
- Pline W.A., Wu J., Hatzios K.K. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in five weed species as influenced by ammonium sulfate and pelargonic acid. **Weed Science** 1999; 47:636–643.

- Powell J.R. et al. Effect of glyphosate on the tripartite symbiosis formed by *Glomus intraradices*, *Bradyrhizobium japonicum*, and genetically modified soybean. **Applied Soil Ecology**. 2009; 41: 128–136.
- Reis M.R. et al. Impacto do Glyphosate associado com endossulfan e tebuconazole sobre microrganismos endossimbiontes da soja. **Planta daninha**. 2010; 28: 113-121.
- Reis M.R. et al. Micorrização, nodulação e produção da soja roundup ready após a aplicação de diferentes formulações de glyphosate. **Planta Daninha**. 2014; 32: 563-569.
- Reddy K.N., Zablotowicz, R.M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Science**. 2003; 51: 496-502.
- Rosa D. et al. Efeito de herbicidas sobre agentes fitopatogênicos. **Acta Scientiarum Agronomy**. 2010; 32: 379-383.
- Ruhland M., Engelhardt G., Pawlizki K. Distribution and metabolism of D/L-, L- and D-glufosinate in transgenic, glufosinate-tolerant crops of maize (*Zea mays* L ssp *mays*) and oilseed rape (*Brassica napus* L var *napus*). **Pest Management Science**. 2004; 60:691–696.
- Seguel A., Castillo C.G., Morales A., Campos P., Cornejo P., Borie F. Arbuscular mycorrhizal symbiosis in four Al-tolerant wheat genotypes grown in an acidic Andisol. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. 2016; 16:164–173.
- Smith S.E., Read D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. 3rd ed. London: Academic Press, 2008. 803 p.
- Steckel G.J., Hart S.E., Wax L.M. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. **Weed Science**. 1997; 45:378–381.
- Sweeney J.A., Jones M.A. Glufosinate tolerance of multiple WideStrike and Liberty-Link Cotton (L.) cultivars. **Crop Science**. 2015; 55: 403-410.
- Vierheilig H. et al. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied and Environmental Microbiology**. 1998; 64: 5004–5007.
- Zablotowicz R.M., Reddy K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**. 2004; 33: 825–831.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora tenha sido constatada alguma intoxicação das plantas da soja tolerantes ao glufosinato de amônio pela aplicação desse herbicida, houve rápida recuperação da cultura, não influenciando na produtividade.

Em geral, a avaliação da nova tecnologia de soja tolerante ao glufosinato de amônio, comparando-a com sistemas já utilizados, permitiu verificar que a mesma se mostra similar a tecnologia de tolerância ao glifosato, em especial quanto ao controle de plantas daninhas, produtividade e nodulação.

No aspecto de controle de plantas daninhas, é notável que o herbicida glufosinato de amônio necessita de mais atenção quanto ao estágio de aplicação, sendo necessário maior cautela para que sua aplicação seja eficaz.

Nas condições desse estudo, a colonização micorrízica arbuscular e nodulação não influenciaram a produtividade de grãos de soja. Apenas é alertado sobre o possível impacto na colonização micorrízica arbuscular pela aplicação de glufosinato de amônio nas plantas tolerantes ao mesmo, o que poderia acarretar em impactos na produtividade em condições de estresse, especialmente nutricional, fato que não ocorreu nesse trabalho.

Isso demonstra a possibilidade de produtos químicos utilizados na agricultura, como os herbicidas, afetarem a microbiota do solo e, conseqüentemente, sua fertilidade.

O presente estudo mostra que a soja tolerante ao glufosinato de amônio pode ser outra opção eficiente no manejo de plantas daninhas na cultura da soja e sem interferência na produtividade final dos grãos.