

Qualidade fisiológica e expressão enzimática de sementes de soja RR[®]

Physiological quality and enzymatic expression of RR[®] soybean seed

Douglas Goulart Castro¹, Adriano T. Bruzi¹, Everton V. Zambiazzi¹, Pedro M. de Rezende¹, Alan M. Zuffo^{2*}, Ana P. de Sales³, Igor O. Soares¹, Isabella M. M. Borges¹ e Mariane C. Bianchi¹

¹ Universidade Federal de Lavras, Dpto. de Agricultura, Campus Universitário, CEP: 37200-000, Lavras, MG, Brasil;

² Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dpto. de Produção Vegetal, Unidade Universitário de Cassilândia, MS 306, km 6,4, CEP: 79540-000, Cassilândia, MS, Brasil;

³ Universidade Federal de Lavras, Dpto. de Engenharia, Campus Universitário, CEP: 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

(* E-mail: alan_zuffo@hotmail.com)

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA16054>

Recebido/Received: 2016.04.30

Recebido em versão revista/received in revised form: 2016.11.11

Aceite/Accepted: 2016.11.16

RESUMO

O herbicida glifosato tem afetado os bioindicadores de qualidade do solo, aspectos morfofisiológicos e nutricionais das plantas de soja RR[®]. Contudo, não se sabe o impacto desses efeitos fisiológicos na qualidade das sementes de soja RR[®]. A expressão de enzimas está relacionada a qualidade das sementes de soja por ocasião dos genótipos e ambientes de produção. Foi objectivo neste trabalho, avaliar a qualidade fisiológica e a atividade enzimática de sementes de soja RR[®] em dois ambientes de produção em função de doses do herbicida glifosato. As sementes foram produzidas na safra 2014/15 nos municípios de Lavras e Patos de Minas em esquema fatorial 3 x 6, sendo três cultivares comerciais de soja RR[®] (CD 250, TMG 1174, V-MAX) e seis doses do herbicida glifosato (0, 960, 1920, 2880, 3840, 4800 g e.a. ha⁻¹). As sementes colhidas foram analisadas em laboratório quanto a expressão enzimática, bem como o teor de água, germinação em areia, germinação em papel, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica, envelhecimento acelerado e o vigor e viabilidade de sementes, adotando-se delineamento inteiramente casualizado. A aplicação de doses crescentes de glifosato até 4800 g e.a. ha⁻¹ não influencia a qualidade fisiológica de sementes de soja. Não houve efeito do aumento das doses de glifosato sobre a expressão enzimática para esterase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase e catalase. A cultivar V-MAX RR apresentou percentagem de germinação em areia 80%, estando nos padrões de comercialização de sementes no Brasil.

Palavras-chave: álcool desidrogenase, catalase, esterase, malato desidrogenase, Roundup Ready[®], vigor de sementes.

ABSTRACT

The herbicide glyphosate affects soil quality bio indicators and morph physiological and nutritional aspects of RR[®] soybean plants. However, to the best of our knowledge, the impact of these physiological effects on the quality of RR[®] soybean seeds is not known. The expression of enzymes is related to quality of soybean seeds according to the genotype and production environment. The aim of this study was to evaluate the physiological quality and the enzymatic activity of RR[®] soybean in two production environments as a function of glyphosate doses. The seeds were produced in the 2014/15 crop in Lavras and Patos de Minas in a factorial 3 x 6, three soybean RR[®] cultivars a function (CD 250, TMG 1174, V-MAX) and six doses of the herbicide glyphosate (0, 960, 1920, 2880, 3840, 4.800 g e.a. ha⁻¹). The harvested seeds were analyzed in the laboratory and enzyme expression as well as water content, germination (in sand and in paper), seedling emergence, emergence speed index, electrical conductivity, accelerated aging and vigor and seed viability. A completely randomized design was adopted. The application of increasing doses of glyphosate up to 4.800 g a.e. ha⁻¹ do not affect the physiological quality of soybean seeds. There was no effect of increasing rates doses of glyphosate on the enzymatic expression of esterase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase and catalase. Cultivar V-MAX RR presented 80% of germination in sand with the seed marketing standards in Brazil.

Keywords: alcohol dehydrogenase, catalase, esterase, malato dehydrogenase, Roundup Ready[®], seed vigor.

INTRODUÇÃO

A adoção da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) transgênica Roundup Ready® tolerante ao herbicida glifosato revolucionou o mercado mundial de soja; o seu cultivo foi autorizado no Brasil há aproximadamente onze anos, pela aprovação da Nova Lei de Biossegurança (Gris *et al.*, 2013). A utilização deste herbicida aplicado em pós-emergência na cultura da soja RR® tem representado uma boa alternativa de controle de plantas daninhas pela eficiência e viabilidade econômica (Melhorança Filho *et al.*, 2011).

O glifosato composto pertencente ao grupo químico dos derivados da glicina é um herbicida de amplo espectro e não-seletivo, utilizado no controle de plantas daninhas anuais, bianuais e perenes, arbustos de folhas largas e lenhosas. O mecanismo de ação do glifosato é bastante singular, pois é o único herbicida capaz de inibir especificamente a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs), atuando na via de síntese dos aminoácidos aromáticos (Mendelson, 1998) inibindo a síntese de três aminoácidos essenciais – triptofano, fenilalanina e tirosina. A soja RR® contém a enzima EPSPs insensível ao glifosato (Santos *et al.*, 2004).

Entre os benefícios sociais obtidos pelo uso do glifosato nos sistemas de produção, inclui-se o maior uso de cultivo conservacionista, reduzindo a erosão do solo e carga de herbicidas, nutrientes e sedimentos no ambiente (Christoffoleti, 2009). O aumento do uso de herbicidas com base em glifosato no agronegócio brasileiro, principalmente na cultura da soja, está relacionado com a expansão da sementeira direta e a comercialização de cultivares geneticamente modificadas tolerantes a este herbicida (Malty *et al.*, 2006). O volume crescente de glifosato, consumido a nível mundial, contribuiu significativamente para a seleção de plantas daninhas resistentes (Koger e Reddy, 2005). Perante a diminuição da eficácia do herbicida em algumas táxones de plantas daninhas, tem sido comum, entre produtores, o aumento das doses recomendadas para a cultura. Ressalta-se que nestas condições, o uso do glifosato não está de acordo com o que foi aprovado, designadamente o limite de resíduos estabelecidos pelas entidades competentes.

Na literatura têm sido publicados vários trabalhos sobre os efeitos do glifosato na fisiologia da cultura da soja tolerante ao herbicida. Para Bervald (2006), um número considerável de pesquisas científicas evidenciam problemas de fitotoxicidade, redução da produtividade e presença de resíduos de herbicidas nas plantas e sementes, acarretando, muitas vezes, perdas no valor comercial e de qualidade do produto. Segundo Cole e Cerdeira (1982), o bloqueio da rota do chiquimato, decorrente da ação do glifosato, leva à acumulação de ácido chiquímico, com muitas implicações fisiológicas. Para Duke e Hoagland (1985) e Becerril *et al.* (1989) podem resultar em síntese de ácido indol acético e de outras hormonas vegetais, síntese de clorofila, fitoalexinas e lignina, proteínas, alteração na respiração, transpiração, permeabilidade de membranas.

Trabalhos com o glifosato têm avaliado os bioindicadores de qualidade do solo, aspectos morfofisiológicos e nutricionais das plantas pulverizadas com este herbicida. Zuffo *et al.* (2014) concluíram que os bioindicadores de qualidade do solo (respiração basal, carbono da biomassa microbiana, quociente microbiano, quociente metabólico) e, o número de nódulos de rizóbio foram influenciados pelo uso do glifosato. Zobiolo *et al.* (2010) revelam significativa diminuição nos parâmetros fotossintéticos (clorofila, taxa fotossintética, transpiração) com o uso de glifosato. Zobiolo *et al.* (2009) e Petter *et al.* (2016) detectaram irregularidade nutricional e menor biomassa nas plantas de soja tratadas com glifosato. Contudo, pouco se sabe de forma conclusiva sobre o impacto desses efeitos fisiológicos na qualidade das sementes de soja RR®. Supõe-se que tais alterações morfofisiológicas desempenhem também papel na formação, desenvolvimento e consequentemente na qualidade fisiológica das sementes.

Possíveis danos à qualidade das sementes de soja RR®, pela aplicação de glifosato em pós-emergência, podem ser provenientes da ocorrência de alterações metabólicas/fisiológicas, que causem má formação das sementes ou danos, como as provocadas pelo AMPA (ácido aminometilfosfónico) que poderiam levar a anormalidades na germinação ou desempenho da plântula (Reddy *et al.*, 2004). Cabe salientar, que o AMPA é o principal metabolito do glifosato. Albrecht e Ávila (2010) observaram

tendência linear decrescente na qualidade das sementes com o incremento na dose de glifosato, justificada pelo possível efeito deletério de altas doses deste herbicida.

No entanto, a consequência do aumento das doses de glifosato, por parte dos produtores sobre o comportamento de plantas transgênicas em condições de campo e seu reflexo na qualidade de sementes ainda necessita de informações. Desta forma, a qualidade fisiológica de sementes de soja RR® devem ser estudadas a fim de obter informações necessárias para a tomada de decisão desta tecnologia. Perante estas considerações, objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica e a atividade de algumas enzimas em sementes de soja RR® produzidas em dois locais de produção em função de doses do herbicida glifosato.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram produzidas em dois locais no estado de Minas Gerais/Brasil, na safra 2014/15, Lavras e Patos de Minas. O município de Lavras está situado à latitude de 21°14' S, longitude 45°00' W, altitude de 918 m, em solo classificado como Latossolo Vermelho Distroférico típico. Já o município de Patos de Minas, situado à latitude de 18°29' S, longitude 46°26' W, altitude de 1074 m, em um solo classificado como Latossolo Vermelho Eutrófico. A composição química do solo, para os dois locais é apresentada no Quadro 1.

As médias mensais de temperatura do ar e precipitação pluviométrica, no período de condução dos ensaios, foram obtidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (Figura 1).

Quadro 1 - Composição química do solo (0-20 cm) de Lavras e de Patos de Minas-MG, para a safra 2014/15

Local	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	P	K	MO	V
	H ₂ O	----- cmol/dm ³ -----				- mol _c /dm ³ -	- mg/dm ³ -	- dag/kg ⁻¹ -		%	
Lavras	5,9	4,7	1,3	0,0	2,9	6,3	9,2	7,2	118	2,6	68
Patos de Minas	5,8	1,5	0,8	0,0	3,6	2,6	6,2	46,9	80	2,6	42

H + Al: acidez potencial; SB: soma de bases; CTC: capacidade de troca catiônica a pH 7,0; MO: matéria orgânica; V: saturação por bases.

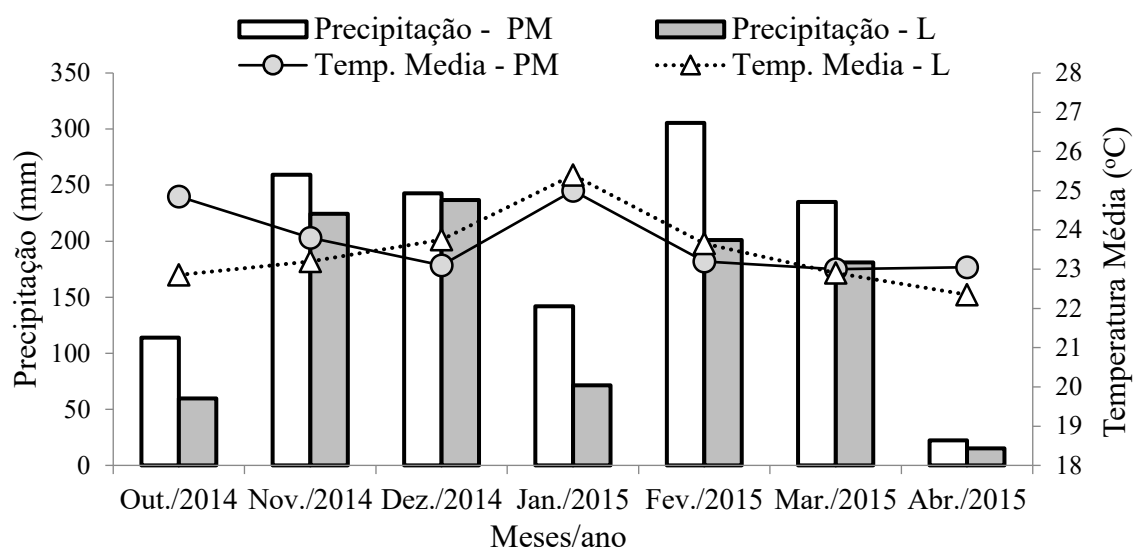


Figura 1 - Médias mensais de precipitação pluvial e temperatura do ar, ocorridas em Patos de Minas-MG (PM) e Lavras-MG (L), durante a realização do ensaio na safra 2014/2015. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

A instalação dos ensaios seguiu o sistema de sementeira direta, com dessecação previa da área com 2 L/ha de glifosato. Em seguida, realizou-se a adubação com semeadora, na quantidade de 350 kg ha⁻¹ do formulado de N-P₂O₅-K₂O (02-30-20). A sementeira foi manual realizada na segunda quinzena de novembro de 2014. A inoculação foi realizada nos sulcos de sementeira com *Bradyrhizobium japonicum* na proporção de seis vezes a dose recomendada para o tratamento via sementes (2 mL kg⁻¹ de semente). A densidade de sementeira foi de 15 sementes por metro linear.

Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com três repetições, dispostos em esquema fatorial 3 x 6, sendo três cultivares soja RR[®] (CD 250, TMG 1174, V-MAX) e seis doses do herbicida glifosato (0, 960, 1920, 2880, 3840, 4800 g e.a. ha⁻¹), utilizou-se o produto comercial Roundup Ready[®] (480 e.a. g/L), cuja a formulação é concentrado solúvel. Para a testemunha (ausência de glifosato) o controle de plantas daninhas foi realizado por meio monda manual. A aplicação do herbicida glifosato foi realizada em pós-emergência da cultura, 25 dias após a emergência (DAE) utilizando-se um pulverizador costal, mantido com pressão constante por CO₂ comprimido, constituído de barra com 4 pontas de pulverização do tipo XR 11002 VS, espaçados de 0,5 m e pressão de trabalho de 206,84 KiloPascal. As parcelas experimentais foram constituídas de quatro fileiras com 5,0 m de comprimento, espaçadas em 0,50 m, sendo utilizadas como área útil apenas as duas fileiras centrais.

Para o controle de doenças foi realizada aplicações preventivas de fungicidas. Os fungicidas utilizados foram piraclostrobina (250 g/L) do produto comercial Comet[®], na dose de 0,5 L/ha, piraclostrobina (133 g/L) + epoxiconazol (50 g/L) na dose de 0,5 litros do produto comercial Opera[®] por hectare e azoxistrobina (200 g/L) + ciproconazol (80 g/L) na dose de 300 mL de produto comercial Priori Xtra[®] por hectare, com volume de cada de 200 L/ha. O controle de pragas foi realizado, quando necessário, com a utilização do inseticida, com acção ovicida e larvicida, teflubenzurão (150 g/L) na dose de 50 mL/ha do produto comercial Nomolt[®] 150, cujo volume de calda foi de 200 L/ha e os inseticidas de contato cipermetrina (250 g/L) do produto comercial Cipermetrina Nortox[®] 250 EC e clorpirifós (480 g/L) do produto comercial

Lorsban[®] 480 BR na dosagem de 120 e 250 mL/ha, respectivamente.

A colheita foi realizada manualmente quando as plantas se encontravam em R₈ – maturação plena, (Fehr *et al.*, 1971) e a debulha mecânica com auxílio de trilhadora Vencedora modelo Maqtron[®]. As amostras das parcelas foram homogeneizadas e classificadas por peneira. Para as análises e determinações foram utilizadas sementes retidas nas peneiras de crivo circular 6,5 e 7 mm. Posteriormente, foram realizadas as análises no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras. As avaliações foram realizadas utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com duas subamostras de 50 sementes por repetição, totalizando 300 sementes por tratamento.

A qualidade fisiológica foi avaliada mediante as seguintes determinações:

Teor de água – determinado pelo método da estufa a 105°C ± 3°C por 24-h (Brasil, 2009).

Germinação em areia – A sementeira foi realizada em substrato, contendo areia em canteiro, umedecido a 60% da capacidade de campo. No oitavo dia, segundo as Regras para Análises de Sementes (Brasil, 2009), contou-se o número de plântulas normais.

Germinação em papel – o substrato para sementeira foi o papel do tipo “Germitest”, na forma de rolo, umedecido com água em 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida as sementes foram colocadas numa câmara de germinação a 25 °C. As avaliações foram efetuadas de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), aos 5 dias após a sementeira, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Envelhecimento acelerado – Foram utilizadas caixas plásticas tipo gerbox, adaptadas com tela de alumínio suspensa. Em cada gerbox foram adicionados 40 mL de água e uma camada única de sementes sobre toda a tela. Em seguida foram mantidos em câmara tipo BOD a 41 °C por 48-h (Marcos Filho, 1999). Após este período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, avaliadas conforme Brasil (2009).

Emergência sob condições controladas – A sementeira foi realizada em substrato, contendo solo + areia na proporção 2:1, em bandejas plásticas, umedecido a 60% da capacidade de campo. Após a sementeira, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal à temperatura de 25 °C, em regime alternado de luz e escuro (12-h), com irrigações subsequentes uniformes de acordo com a necessidade da cultura. A partir da emergência da primeira plântula (cotilédone totalmente visível) foram realizadas avaliações diárias, contando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização, com contagem final aos 14 dias após a sementeira. Foi considerada a porcentagem final de emergência e o índice de velocidade de emergência (IVE), determinado pela fórmula proposta por Maguire (1962).

Condutividade elétrica – utilizou-se o método de condutividade de massa, sendo colocadas 50 sementes/repetição, previamente pesadas, em copos plásticos contendo 75 mL de água deionizada e, a seguir transferidos para câmara tipo BOD regulado à temperatura constante de 25 °C, durante 24-h (Krzyzanowski *et al.*, 1999). Decorrido este período, os recipientes foram retirados do germinador e suavemente agitados, e com auxílio do condutímetro (MS TECNOPON® – mCA150) foi medida a condutividade elétrica da solução. Os valores médios obtidos foram expressos por $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes.

Teste de Tetrazólio – as sementes foram acondicionadas em papel *germitest* umedecido e mantidas por 16-h a 25 °C. Após esse período, as sementes foram colocadas em recipientes plásticos sendo totalmente submersas na solução de 0,075% de sal de tetrazólio, permanecendo por três horas à temperatura de 40 °C numa câmara de incubação. Após esse período, as sementes foram lavadas em água e, colocadas novamente nos recipientes plásticos com água. Em seguida, determinou-se a viabilidade e o vigor, através da classificação de cada semente em uma das oito categorias descritas por França Neto *et al.* (1998).

Perfis isoenzimáticos – As amostras foram moídas em moinho refrigerado adicionando-se azoto líquido e antioxidante polivinilpirrolidona (PVP) e em seguida foram armazenadas à temperatura de -86 °C. Para a extração das enzimas foram utilizados 100 mg da amostra de sementes moídas. Antes da

extração, procedeu-se a lavagem das amostras para retirada do óleo. Para isto, utilizaram-se 600 μL da solução com 50% éter etílico + 50% água, com homogeneização e vortex e repouso por 30 minutos em gelo, o homogeneizado foi centrifugado na força centrífuga relativa de 10956 g por 30 min a 4 °C, descartando-se o sobrenadante. Em seguida foram adicionados 300 μL do tampão de extração (estrase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase: Tris HCl 0,2M pH 8,0; catalase: Tris pH 8,9) e 0,1% de β mercaptoetanol. O material foi colocado a 4 °C por 12-h e, depois centrifugado na força centrífuga relativa de 10956 g por 30 min a 4 °C. Foram aplicados 50 μL do sobrenadante no gel de corrida, sistema descontínuo, gel separador poliacrilamida 7,5% e gel concentrador poliacrilamida 4,5%. O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi tris-glicina pH 8,9. As corridas foram efetuadas a 140 V, por 5-h, a 4 °C. Após a eletroforese os géis foram revelados para as enzimas esterase (E.C.3.1.1.1), álcool desidrogenase (EC.1.1.1.1), malato desidrogenase (E.C.1.1.1.37), e catalase (1.11.1.6) (Alfenas, 2006). A avaliação dos perfis isoenzimáticos foi realizada visualmente, utilizando-se a superfície de um transiluminador, com base na intensidade, presença e ausência de bandas.

A análise de variância conjunta foi realizada adotando o modelo estatístico e o procedimento de análise semelhante ao apresentado por Ramalho *et al.* (2012). As médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SISVAR® (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise conjunta detectaram-se diferenças significativas ($p \leq 0,01$) nas avaliações de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado para o factor cultivares (Quadro 2). Esse fato já era esperado pois o genótipo influencia a qualidade fisiológica das sementes de soja (Krueger *et al.*, 2013), uma vez que as cultivares distinguem-se quanto ao *background* genético, hábito de crescimento, grupo de maturação e outros atributos, propiciando a existência de tais variações (Felisberto *et al.* 2015; Soares *et al.* 2015).

Quadro 2 - Análise de variância conjunta e valores médios para os parâmetros de qualidade da semente de três cultivares de soja RR®, em relação aos factores dose de glifosato e local no ano agrícola 2014/2015, MG, Brasil. – Teor de água (TA – %), germinação em areia (GA – %) e em papel (G – %), emergência de plântulas (EP – %), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE – $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), envelhecimento acelerado (EA – %), e vigor (VIG^{TZ} – %) e viabilidade (VIA^{TZ} – %)

FV	GL	<i>prob > Fc</i>									
		TA	GA	G	EP	IVE	CE	EA	VIG ^{TZ}	VIA ^{TZ}	
Cultivares (C)	2	NS	NS	NS	**	**	**	**	NS	NS	
Dose (D)	5	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Local (L)	1	NS	**	*	**	**	**	NS	**	**	
C x D	10	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
C x L	2	NS	**	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	
D x L	5	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
C x D x L	10	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Erro	72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Média Geral		9,0	79,0	73,0	92,0	87,9	47,3	50,0	79,0	82,0	
CV (%)		11,1	9,2	8,0	7,3	13,6	15,9	17,0	5,4	3,8	
F.V.		Médias									
<u>Local¹</u>											
Lavras		9,0 a	77,0 b	72,0 b	84,0 b	68,7 b	44,1 b	51,0 a	78,0 b	81,0 b	
Patos de Minas		9,1 a	81,0 a	75,0 a	99,0 a	107,1 a	50,6 a	49,0 a	80,0 a	83,0 a	
<u>Doses (g e.a. ha⁻¹)</u>											
0		9,0	79,0	72,0	86,0	88,4	51,7	50,0	81,0	82,0	
960		9,2	78,0	73,0	88,0	89,2	44,7	45,0	78,0	82,0	
1920		8,9	79,0	72,0	87,0	90,2	48,2	50,0	79,0	81,0	
2880		9,1	78,0	76,0	86,0	84,5	45,6	49,0	79,0	82,0	
3840		9,2	80,0	74,0	88,0	85,0	49,2	51,0	79,0	83,0	
4800		9,0	79,0	73,0	88,0	90,3	44,6	54,0	78,0	83,0	
<u>Cultivares²</u>											
CD 250 RR		9,0 a	77,0 a	74,0 a	85,0 b	86,6 b	46,6 b	44,0 b	78,0 a	81,0 a	
TMG 1174 RR		8,8 a	79,0 a	74,0 a	87,0 b	78,7 c	57,1 a	65,0 a	80,0 a	83,0 a	
V – MAX RR		9,2 a	80,0 a	72,0 a	90,0 a	98,4 a	38,3 c	41,0 b	79,0 a	82,0 a	

** Significativo a 1%, * Significativo a 5%, e (NS) Não significativo de acordo com o teste de F. FV – fontes de variação; GL – grau de liberdade; CV – coeficiente de variação; Fc – F calculado. ² teste F. ³ teste de Scott Knott (1974), a 5% de probabilidade. TZ – Tetrazólio

Para as doses de glifosato Roundup Ready® (480 e.a. g/L), observou-se que não houve efeito significativo nos caracteres avaliados, ou seja, o herbicida glifosato, na formulação estudada, não influenciou a qualidade fisiológica das sementes de soja RR® (Quadro 2). Resultados semelhantes utilizando (Roundup Ready®, 480 e.a. g/L) foram descritos por Norsworthy (2004), o qual observou a ausência de efeitos negativos do glifosato sobre a produtividade e germinação de sementes de soja. Contudo, resultado divergentes utilizando o mesmo herbicida foram verificados por Albrecht *et al.* (2008) e Albrecht e Ávila (2010), onde os autores relatam influência negativa sobre a qualidade de sementes de soja após a aplicação do herbicida glifosato (Roundup Ready®, 480 e.a. g/L) em pós emergência.

O efeito do local de produção na expressão da qualidade fisiológica das sementes é frequentemente

destacado na literatura (Schnebly e Fehr, 1993; Krueger *et al.*, 2013), e corrobora com os relatos evidenciados no presente trabalho. Neste estudo também foi observado interação significativa entre cultivares e locais de produção, evidenciando assim que as cultivares apresentaram desempenho não consistente. Estes resultados confirmam os relatos apresentados por Ávila *et al.* (2003); Lima *et al.* (2008) e Gomes *et al.* (2012) para a qualidade fisiológica nos locais avaliados. Interações significativas entre cultivares e locais, têm sido frequentemente relatadas na literatura para a qualidade fisiológica de sementes (Lima *et al.*, 2008; Pádua *et al.*, 2010; Krueger *et al.*, 2013). De fato isso ocorreu, pois os dois locais eram distintos no que se referem as características de altitude, latitude e longitude, e apresentaram variações de precipitação e temperatura durante a produção das sementes em campo (Figura 1), sendo estes fatores essenciais para a

produção de sementes. Para os locais de produção, fica evidente que o ambiente de Patos de Minas propiciou maior qualidade fisiológica de sementes avaliadas pelos testes de germinação (em areia e em papel), emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica, vigor e viabilidade. Para o índice de velocidade de emergência, por exemplo, o ambiente de Patos de Minas apresentou índice de 36% superior as sementes produzidas em Lavras, demonstrando maior vigor das sementes de soja RR[®] produzidas naquele ambiente. Este fato pode estar relacionado com as condições climáticas observadas em Lavras, sobretudo no momento da colheita. No município de Lavras, apesar de menor volume de precipitação no momento da colheita a sua duração no tempo foi maior que a em Patos de Minas, retardando a colheita naquele ambiente e propiciando um microclima favorável à ocorrência de patógenos, comprometendo assim a qualidade fisiológica de sementes. Adicionalmente, verificou-se que o solo de Patos de Minas continha maiores teores de fósforo (Quadro 1). Segundo Casonatto *et al.* (2014) em solos com maiores disponibilidade de fósforo e tratos com menores doses de glifosato culminam em menores sintomas de fitointoxicação nas plantas de soja RR[®].

As médias referentes às cultivares, envolvendo todos os testes de qualidade apresentados no Quadro 2, permitem inferir que a cultivar V-MAX RR apresentou desempenho significativamente superior para os testes de emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência. No entanto, quando avaliado o vigor das sementes por meio do teste de envelhecimento acelerado a cultivar TMG 1174 RR apresentou melhores resultados. Para a porcentagem de germinação em areia, a cultivar V-MAX RR foi a única a obter porcentagem de germinação dentro das normas exigida para a comercialização de sementes no Brasil, que é de 80%, estabelecidos pela Instrução Normativa n. 45 (Brasil, 2013). Elevadas taxas de germinação culminam com o estabelecimento da população de plantas requeridas pela cultivar, no qual é um aspecto fundamental que contribui para que sejam alcançados níveis altos de produtividade (Krzyzanowski, 2004). Por outro lado, sementes com germinação média ou baixa resultam em plântulas fracas com pouca ou nenhuma possibilidade de se estabelecerem competitivamente no campo (França Neto *et al.* 2010).

Para a emergência, obtiveram-se estimativas de maior magnitude quando comparados com a germinação obtida em laboratório. A cultivar V-MAX RR obteve maior emergência de plântulas (90%) diferindo significativamente as demais cultivares. A superioridade do teste de emergência em relação ao teste de germinação já foi observada anteriormente por Henning e França Neto (1980) e Bizzetto e Homechin (1997). O índice de velocidade de emergência (IVE) variou entre as cultivares, sendo significativamente superior para plântulas da cultivar V-MAX RR. O índice de velocidade de emergência está associado ao vigor de sementes de soja, pois sementes com maior IVE tendem a apresentar melhor desempenho e, conseqüentemente maior velocidade de emergência no campo de cultivo, resistindo melhor a estresses que possam ocorrer durante a emergência (Dan *et al.*, 2010). Salienta-se também que sementes com maior IVE originam plantas que rapidamente cobrem o solo das entrelinhas, o que controla a maior parte das ervas daninhas (França Neto *et al.*, 2010).

Para sementes de soja com alto vigor, os valores ideais para condutividade elétrica seriam até 70-80 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ (Vieira e Krzyzanowski, 1999). Neste sentido a cultivar TMG 1174 RR obteve valores significativamente superiores às cultivares CD 250 RR e V-MAX RR, com valores abaixo daqueles considerados ideais. Tal resposta, pode ser explicada pela diferente capacidade dos genes inseridos nas cultivares RR[®] em expressar tolerância ao herbicida glifosato, que segundo Lacerda e Matallo (2008) podem ou não ocorrer de forma homogênea entre cultivares e, até mesmo, dentro da mesma cultivar, além de outros fatores inerentes a genética de cada cultivar. É importante ressaltar que a degradação das membranas celulares se constitui, hipoteticamente, no primeiro evento do processo de deterioração (Delouche e Baskin, 1973). Testes como o de condutividade elétrica que avaliam a integridade das membranas são, teoricamente, mais sensíveis para estimar o vigor das sementes, o que, possivelmente, segundo Lacerda e Matallo (2008), explicaria as alterações nos valores de condutividade.

No teste de envelhecimento acelerado, pela análise das médias de cada cultivar observa-se que as cultivares V – MAX RR e CD 250 RR apresentam sensibilidade às condições de alta umidade relativa do ar

e temperatura significativamente superior à cultivar TMG 1174 RR. O envelhecimento acelerado consiste na simulação de fatores ambientais adversos, temperatura e umidade relativa elevada, os quais estão relacionados com a deterioração das sementes (Marcos Filho, 1999; Torres e Marcos Filho, 2001). Sob essas condições, sementes com baixa qualidade fisiológica deterioram-se mais rapidamente do que sementes mais vigorosas, estabelecendo diferenças no potencial fisiológico (Guedes *et al.*, 2011). Assim, lotes de sementes de alto vigor devem manter a sua viabilidade quando submetidos a tais condições, enquanto que os de baixo vigor terão sua viabilidade reduzida (AOSA, 1983).

Com relação ao perfil izoenzimático da esterase (E.C.3.1.1.1), verifica-se diferença na expressão da enzima para as cultivares, onde maior expressão desta enzima foi observada em sementes da cultivar V-MAX RR (Figura 2).

De acordo com Ferreira (2015), maior incremento na expressão da enzima esterase, pode estar relacionado a maiores valores de germinação, pois a esterase está envolvida no desdobramento de lipídios, durante o processo de germinação das

sementes, fato este que é observado nos testes de qualidade fisiológica onde a cultivar V-MAX RR apresentou os melhores resultados. Esse processo é relevante para a retomada do crescimento do eixo embrionário, principalmente em sementes ricas em lipídios, como é o caso da soja (Veiga *et al.*, 2010). Mavaieie (2014) também constatou que a esterase é eficiente na detecção das variações na qualidade fisiológica de sementes de soja. Para as doses de glifosato estudadas e ambientes de produção não foram observadas alterações na expressão para a esterase.

Em todas as cultivares foi observada a expressão da enzima malato desidrogenase (E.C.1.1.1.37), porém sementes da cultivar CD 250 RR, produzidas em Lavras (Figura 3), apresentaram maior expressão nas três maiores doses avaliadas. No entanto, como este resultado não se repetiu para o ambiente de Patos de Minas não é possível afirmar que tal alteração é proveniente das doses de glifosato aplicadas. Pesquisas que relacionem o aumento das doses de glifosato e a atividade enzimática em sementes de soja são escassas. Contudo, há trabalhos que avaliaram o efeito do glifosato na nodulação do tremço (*Lupinus albus*

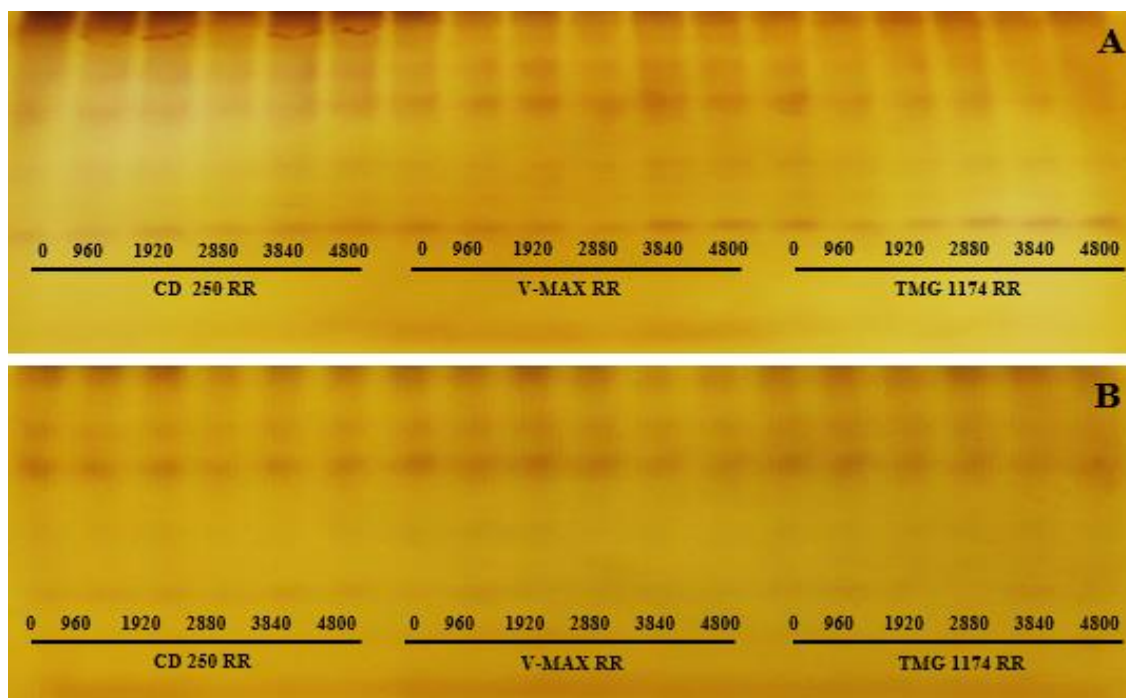


Figura 2 - Perfil isoenzimático de esterase de sementes transgênicas de soja RR[®] das cultivares CD 250 RR, V-MAX RR e TMG 1174 produzidas nos municípios de Lavras (A) e Patos de Minas (B), sob diferentes doses de aplicação de glifosato (0, 960; 1920, 2880, 3840, 4800 g e.a. ha⁻¹).

L.) e na expressão e actividade da enzima malato desidrogenase (Maria *et al.*, 2007), onde os autores verificaram que tal enzima é inibida na presença de glifosato mesmo em doses muito inferiores às utilizadas no campo. A maior expressão desta enzima na cultivar CD 250 RR, corrobora com os resultados fisiológicos e de vigor nos quais apresentou resultados inferiores, para o ambiente de Lavras, uma vez que maior expressão de malato desidrogenase indica maior atividade respiratória e possivelmente o avanço do processo de deterioração (Ferreira, 2015).

A malato desidrogenase é uma enzima ativada principalmente durante o processo de respiração celular, regenerando uma molécula de oxalacetato a partir da oxidação de uma molécula de malato, mantendo ativo o fluxo oxidativo durante o ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs), característico de uma das etapas do processo respiratório aeróbico. Durante a germinação de sementes, essa enzima também atua no processo de gliconeogénese, responsável pela geração de sacarose a partir de triacilgliceróis presentes no interior dos oleossomos, nos tecidos de reserva da semente (Costa *et al.*, 2008).

Sobre a avaliação da enzima álcool desidrogenase, foi verificado que houve maior expressão pela cultivar CD 250 RR principalmente no ambiente de produção localizado em Patos de Minas (Figura 4).

O aumento da expressão da álcool desidrogenase (EC.1.1.1.1) sugere uma respiração anaeróbica. Essa enzima é relevante, pois converte o acetaldeído em etanol, um composto com menor toxicidade, e reduz a velocidade do processo de deterioração (Veiga *et al.*, 2010). Portanto, com maior expressão da enzima álcool desidrogenase, as sementes ficam menos susceptíveis à ação deletéria do acetaldeído. Baldoni (2013) e Carvalho *et al.* (2014) também constataram maiores expressões da álcool desidrogenase em sementes de cultivares de soja que apresentaram melhor qualidade fisiológica.

Em relação à expressão da enzima catalase, foi constatado que as sementes colhidas no município de Lavras apresentaram maior atividade enzimática, enfatizando que a cultivar TMG 1174 RR apresentou uma resposta mais consistente quanto sua qualidade fisiológica nos diferentes tratamentos (Figura 5). Para o município de Patos de Minas,

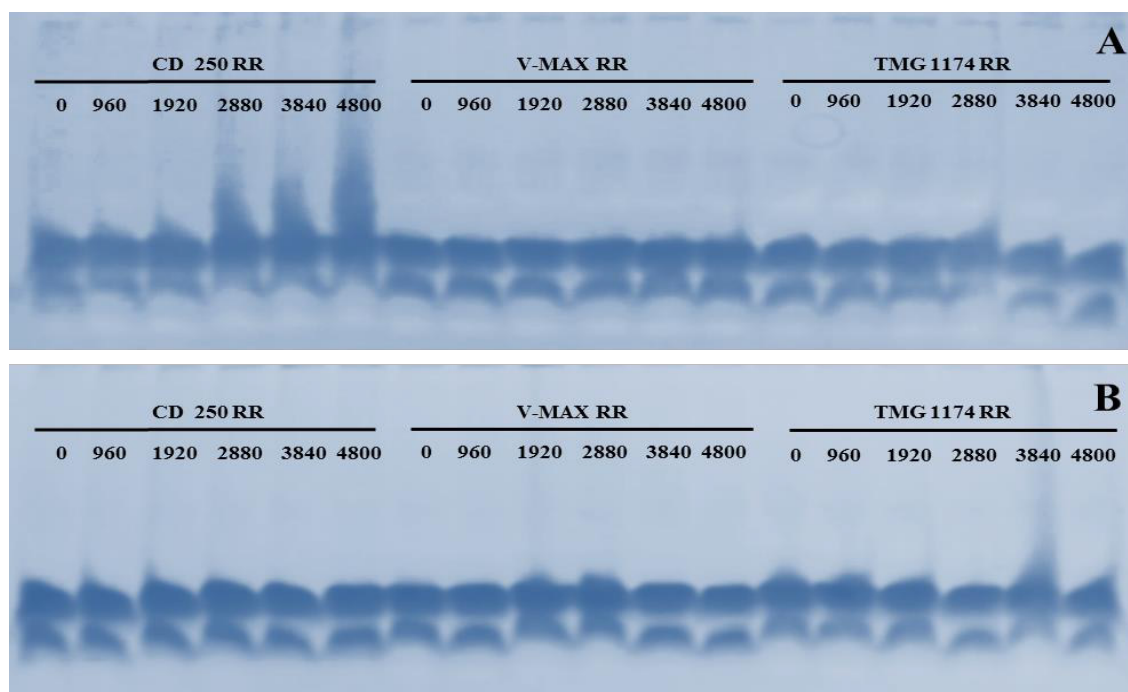


Figura 3 - Perfil isoenzimático da malato desidrogenase esterase de sementes transgênicas de soja RR[®] das cultivares CD 250 RR, V-MAX RR e TMG 1174 produzidas nos municípios de Lavras (A) e Patos de Minas (B), sob diferentes doses de aplicação de glifosato (0, 960; 1920, 2880, 3840, 4800 g e.a. ha⁻¹).

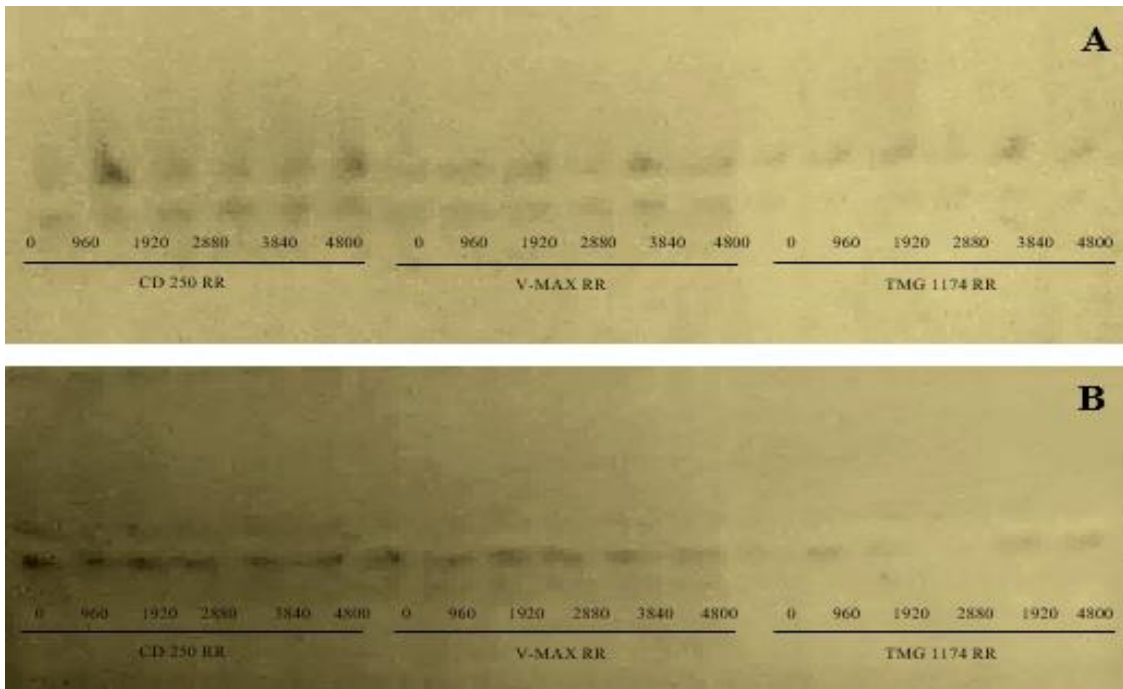


Figura 4 - Perfil isoenzimático da álcool desidrogenase esterase de sementes transgênicas de soja RR[®] das cultivares CD 250 RR, V-MAX RR e TMG 1174 produzidas nos municípios de Lavras (A) e Patos de Minas (B), sob diferentes doses de aplicação de glifosato (0, 960; 1920, 2880, 3840, 4800 g e.a. ha⁻¹).

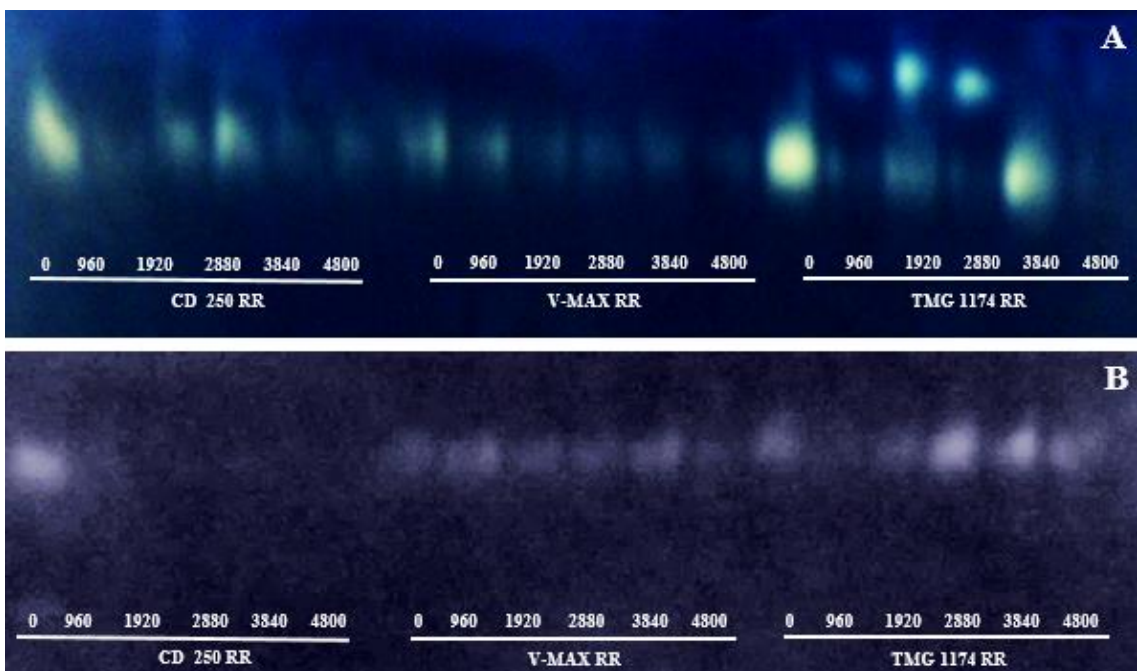


Figura 5 - Perfil isoenzimático de catalase de sementes transgênicas de soja RR[®] das cultivares CD 250 RR, V-MAX RR e TMG 1174 produzidas nos municípios de Lavras (A) e Patos de Minas (B), sob diferentes doses de aplicação de glifosato (0, 960; 1920, 2880, 3840, 4800 g e.a. ha⁻¹).

essa mesma cultivar também apresentou maior expressão, mas em menor intensidade comparado com as sementes produzidas em Lavras.

A catalase é uma enzima intracelular, encontrada nos glioxissomos das células vegetais. Ela atua na desintoxicação celular, transformando espécies reativas de oxigênio em substâncias não reativas e na decomposição do peróxido de hidrogênio por reação de dismutação (Lehninger, 2006).

Em sementes deterioradas, tem sido observada menor atividade dessa enzima com menor eficiência dos sistemas removedores de radicais livres. Segundo Jeng e Sung (1994), quando a semente está em condições de envelhecimento, ocorre maior peroxidação dos lipídios e redução na atividade das enzimas removedoras de peróxidos como a catalase (1.11.1.6).

Os metabolismos dos herbicidas nas plantas ocorrem em quatro fases: transformação, conjugação, compartimentalização e metabolização dos compostos (Cole *et al.*, 1994). De acordo com Yamada e Abdalla (2007) a capacidade do glifosato em formar quelatos com os íons na planta pode ser variável entre diferentes cultivares.

Nesse sentido, houve incremento enzimático da malato desidrogenase, catalase e álcool desidroge-

nase em algumas cultivares e locais verificados neste estudo, mesmo que de forma isolada. Provavelmente, devido à possibilidade do glifosato atuar como um quelato, 'sequestrando' íons fundamentais para a atividade enzimática como o Mg e o Mn.

CONCLUSÕES

A aplicação de doses crescentes de glifosato até 4800 g e.a. ha⁻¹ não influenciou a qualidade fisiológica de sementes de soja. Não houve efeito significativo do aumento das doses de glifosato sobre a expressão enzimática para esterase (E.C.3.1.1.1), álcool desidrogenase (EC.1.1.1.1), malato desidrogenase (E.C.1.1.1.37) e catalase (1.11.1.6). A expressão de enzimas está relacionada com a qualidade das sementes de soja dos genótipos ou com o ambiente de produção.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos à FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão de bolsas de Mestrado e Doutorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albrecht, L.P.; Alonso, D.G.; Constantin, J.; Oliveira Jr, R.S.; Braccini, A.L.; Barbosa, M.C.; Albrecht, A.J.P. e Biffe, D.F. (2008) – Qualidade fisiológica e sanitária das sementes de soja RR em resposta ao uso do glifosato; em misturas ou isolados; aplicados sequencialmente. *In: XVIII Congresso de la Asociación Latinoamericana de Malezas; e XXVI Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas*, 2008, Ouro Preto. Anais.
- Albrecht, L.P. e Ávila, M.R. (2010) – Manejo de glyphosate em soja RR e a qualidade das sementes. *Informativo Abrates*, vol. 20, n. 2, p. 45-54.
- Alfenas, A.C. (2006) – *Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos*. 2.^a ed. Viçosa, MG: UFV, 2006, 627 p.
- AOSA (1983) – *Seed vigor testing handbook*. East Lansing, p. 88. Association of Official Seed Analysts
- Ávila, M.R.; Braccini, A.L.; Motta, I.S.; Scapim, C.A. e Braccini, M.C.L. (2003) – Sowing seasons and quality of soybean seeds. *Scientia Agrícola*, vol. 60, n. 2, p. 245-252. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162003000200007>

- Baldoni, A. (2013) – *Expressão de genes relacionados com qualidade fisiológica de sementes de soja*. Tese de Doutorado Agronomia Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 57 p.
- Becerril, J.M.; Duke, S.O. e Lydon, J. (1989) – Glyphosate effects on shikimate pathway products in leaves and flowers of velvetleaf. *Phytochemistry*, vol. 28, n. 4, p. 695-699. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80095-0](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(89)80095-0)
- Bervald, C.M.P. (2006) – *Desempenho fisiológico e metabolismo de sementes de soja convencional e transgênica submetidas ao glifosato*. 51 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Brasil, 51p.
- Bizzetto, A.E. e Homechin, M. (1997) – Efeito do período e da temperatura de armazenamento na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja com altos índices de *Phomopsis sojae* (Leh.). *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 19, n. 2, p. 296-303.
- Brasil (2009) – *Regras para análise de sementes*. Brasília: Mapa/ACS, 308 p.
- Brasil (2013) – Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 45, de 17 de setembro de 2013. *Padrões de identidade e qualidade para produção e comercialização de sementes*. <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2012/10/Instru%C3%A7%C3%A3o-Normativa-n%C2%BA-45-de-17-de-Setembro-de-2013-Padr%C3%B5es-de-Identidade-e-Qualidade-Prod-e-Comerc-de-Sementes-Grandes-Culturas-Republica%C3%A7%C3%A3o-DOU-20.09.13.pdf>
- Carvalho, E.R.; Mavaieie, D.P.R.; Oliveira, J.A.; Carvalho, M.V. e Vieira, A.R. (2014) – Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 49, n. 12, p. 967-976.
- Casonatto, M.S.; Arantes, S.A.C.M.; Rieger, E.A. e Andrade, E.A. (2014) – How glyphosate may affect transgenic soybean in different soil and phosphorus levels. *Planta Daninha*, vol. 32, n. 4, p. 843-850. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582014000400019>
- Cole, A.W. e Cerdeira, A.L. (1982) – Southern pea response to glyphosate desiccation. *HortScience*, vol. 17, n. 2, p. 244-246.
- Cole, D.J. (1994) – Detoxification and activation of agrochemicals in plants. *Pesticide Science*, vol. 42, n. 3, p. 209-222. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.2780420309>
- Costa, C.J.; Villela, F.A.; Bertinello, M.R.; Tillmann, M.A.A. e Menezes, N.L. (2008) – Expressão de isoenzimas após a pré-hidratação de sementes de ervilha. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 30, n. 3, p. 130-138. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222008000300017>
- Christoffoleti, P.J. (2009) – A experiência dos cultivos transgênicos resistentes ao glifosato e seu impacto na agricultura brasileira. *Serie Actas INIA*, vol. 44, p. 33-41.
- Dan, L.G.M.; Dan, H.A.; Barroso, A.L.L. e Braccini, A.L. (2010) – Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 32, n. 2, p. 131-139. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000200016>
- Delouche, J.C. e Baskin, C.C. (1973) – Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, vol. 1, n. 2, p. 427-452.
- Duke, S.O. e Hoagland, R.E. (1985) – Effects of glyphosate on metabolism of phenolic compounds. CAB, Washington.
- Fehr, W.R.; Caviness, C.E.; Burmood, D.T. e Pennington, J.S. (1971) – Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science*, vol. 11, n. 6, p. 929-931. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x>
- Felisberto, G.; Bruzi, A.T.; Zuffo, A.M.; Zambiazzi, E.V.; Soares, I.O.; Rezende, P.M. e Botelho, F.B.S. (2015) – Agronomic performance of RR soybean cultivars using to different pre-sowing desiccation periods and distinct post-emergence herbicides. *African Journal Agriculture Research*, vol. 10, n. 34, p. 3445-3452. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2015.9853>
- Ferreira, D.F. (2011) – Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 35, n. 6, p. 1039-1042. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Ferreira, V.F. (2015) – *Aducação com potássio nas características agrônomicas e na qualidade de sementes de soja*. Tese de doutoramento em Agronomia Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 105 p.
- França-Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C. e Henning, A.A. (2010) – A importância do uso de semente de soja de alta qualidade. *Informativo ABRATES*, vol. 20, n. 1-2, p. 37-38.
- França-Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C. e Costa, N.P. (1998) – *O teste de tetrazólio em sementes de soja*. Londrina, (EMBRAPA Documentos, 116), p. 72.

- Gomes, G.D.R.; Benin, G.; Rosinha, R.C.; Galvan, D.; Pagliosa, E.S.; Pinnow, C.; Silva, C.L. e Beche E. (2012) – Produção e qualidade fisiológica de sementes de soja em diferentes ambientes de cultivo. *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 33, p. 2593-2604.
- Gris, C.F.; Von Pinho, E.V.R.; Carvalho, M.L.M.; Diniz, R.P. e Andrade T. (2013) – Lignificação da planta e qualidade de sementes de soja RR pulverizadas com herbicida glifosato. *Ceres*, vol. 60, n. 2, p. 286-292. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2013000200019>
- Guedes, R.S.; Alves, E.U.; Oliveira, L.S.B.; Andrade, L.A.; Gonçalves, E.P. e Melo, P.A.R.F. (2011) – Envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Dalbergianigra (Vell.) Fr. All. *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 32, n. 2, p. 443-450. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p443>
- Henning, A.A. e França Neto, J.B. (1980) – Problemas na avaliação da germinação de semente de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 2, n. 3, p. 9-22.
- Jeng, T.L. e Sung, J.M. (1994) – Hydration effect on lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes activity of artificially age penault seed. *Seed Science and Technology*, vol. 22, n. 3, p. 531-539.
- Koger, C.H. e Reddy, K.N. (2005) – Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Science*, vol. 53, n. 1, p. 84-89.
- Krueger, K.; Goggi, A.S.; Mallarino, A.P.; Mullen, R.E. (2013) – Phosphorus and potassium fertilization effects on soybean seed quality and composition. *Crop Science*, vol. 53, n. 2, p. 602-610. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2012.06.0372>
- Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D. e França Neto, J.B. (1999) – Vigor de sementes: conceitos e testes. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, Comitê de Vigor de Sementes, Londrina: ABRATES, p. 218.
- Krzyzanowski, F.C. (2004) – Desafios tecnológicos para a produção de semente de soja na região tropical brasileira. In: *World Research Conference, 7.; International Soybean Processing, 4.; Congresso Brasileiro de Soja*, Foz do Iguaçu. Proceedings. Foz do Iguaçu: EMBRAPA-CNPSo, p. 1324-1335.
- Lacerda, A.L.S. e Matallo, M.B. (2008) – Verificação do ácido chiquímico em soja geneticamente modificada. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o progresso da Ciência*, 60.
- Lehninger, A.L. (2006) – *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Editora Sarvier, 4.^a ed., 1202 p.
- Lima, W.F.; Pípolo, A.E.; Moreira, J.U.V.; Carvalho, C.G.P.; Prete, C.E.C.; Arias, C.A.A.; Oliveira, M.F.; Souza, G.E. e Toledo, J.F.F. (2008) – Interação genótipo-ambiente de soja convencional e transgênica resistente a glifosato, no Estado do Paraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 43, n. 6, p. 729-736. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000600009>
- Maguire, J.D. (1962) – Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. *Crop Science*, vol. 2, n. 2, p. 176-177.
- Malty, J.S.; Siqueira, J.O. e Moreira, F.M. (2006) – Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbióticos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 41, n. 2, p. 285-291. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2006000200013>
- Marcos Filho, J. (1999) – Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D. e França Neto, J.B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p. 1-24.
- Maria, N.; Becerril, J.M.; García-Plazaola, J.I.; Hernández, A.; Felipe, M.R.; Fernández-Pascual, M. (2006) – New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: role of shikimate accumulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, n. 7, p. 2621-2628. <http://dx.doi.org/10.1021/jf058166c>
- Mavaieie, D.P.R. (2014) – *Desempenho de sementes de diferentes cultivares de soja tratadas e não tratadas armazenadas em diferentes condições*, 102 p. Dissertação de Mestrado em Agronomia Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Brasil.
- Mendelson, J. (1998) – Roundup: o herbicida mais vendido no mundo. *The Ecologist*, vol. 28, p. 24-27.
- Melhorança, Filho, A.L.; Pereira, M.R.R. e Martins, D. (2011) – Efeito de subdoses de glyphosate sobre a germinação de sementes das cultivares de soja RR e convencional. *Bioscience Journal*, vol. 27, n. 5, p. 686-691.
- Norsworthy, J.K. (2004) – Conventional soybean plant and progeny response to glyphosate. *Weed Technology*, vol. 18, n. 3, p. 527-531. <http://dx.doi.org/10.1614/WT-03-066R3>
- Pádua, G.P.; Zito, R.K.; Arantes, N.E. e França Neto, J.B. (2010) – Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 32, n. 3, p. 9-16.
- Petter, F.A.; Zuffo, A.M.; Alcantara Neto, F.; Pacheco, L.P.; Almeida, F.A.; Andrade, F.R. e Zuffo Junior,

- J.M. (2016) – Morphological performance and nutrient accumulation of soybean plants under glyphosate application and water stress. *Australian Journal of Crop Science*, vol. 10, n. 2, p. 251-257.
- Ramalho, M.A.P.; Ferreira, D.F. e Oliveira, A.C. (2012) – *Experimentação em genética e melhoramento de plantas*. 2.^a ed., Lavras: UFLA, 322 p.
- Reddy, K.N.; Rimando, A.M. e Duke, S.O. (2004) – Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, n. 16, p. 5139-5143. <http://dx.doi.org/10.1021/jf049605v>
- Santos J.B.; Jacques, R.J.S.; Procópio, S.O.; Kasuya, M.C.M.; Silva, A.A.; Santos, E.A. (2004) – Efeito de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. *Planta Daninha*, vol. 22, n. 2, p. 293-299. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582004000200017>
- Schnebly, S.R. e Fehr, W.R. (1993) – Effect of years and planting dates on fatty-acid composition of soybean genotypes. *Crop Science*, vol. 33, n. 4, p. 716-719. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300040016x>
- Scott, A.J. e Knott, M.A. (1974) – Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, vol. 30, n. 3, p. 507-512. <http://dx.doi.org/10.2307/2529204>
- Soares, I.O.; Rezende, P.M.; Bruzi, A.T.; Zuffo, A.M.; Zambiazzi, E.V.; Fronza, V. e Teixeira, C.M. (2015) – Interaction between Soybean Cultivars and Seed Density. *American Journal Plant Science*, vol. 6, n. 9, p. 1425-1434. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.69142>
- Torres, S.B. e Marcos Filho, J. (2001) – Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 23, n. 2, p. 108-112.
- Veiga, A.D.; Von Pinho, E.V.R.; Veiga, A.D.; Pereira, P.H.A.R.; Oliveira, K.C. e Von Pinho, R.G. (2010) – Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 34, n. 4, p. 953-960. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542010000400022>
- Vieira, R.D. e Krzyzanowski, F.C. (1999) – Teste de condutividade elétrica. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D. e França Neto, J.B. (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. ABRATES, Londrina, p. 1-26.
- Yamada, T. e Abdalla, S.R.S. (2007) – Simpósio questiona as causas dos problemas de nutrição e doenças de plantas na agricultura moderna. *Informações Agronômicas*, n. 119, p. 1-24.
- Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Junior, R.S.; Huber, D.M.; Constantin, J.; Castro, C.; Oliveira, F.A. e Oliveira Junior, A. (2009) – Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. *Plant and Soil*, vol. 328, n. 1, p. 57-69. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0081-3>
- Zobiolo, L.H.S.; Oliveira Jr, R.S.; Kremer, R.J.; Constantin, J.; Yamada, T.; Castro, C.; Oliveira, F.A. e Oliveira Jr, A. (2010) – Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. *Applied Soil Ecology*, vol. 44, n. 2, p. 176-180. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.12.003>
- Zuffo, A.M.; Petter, F.A.; Nobrega, J.C.A.; Pacheco, L.P.; Alcantara Neto, F. e Andrade, F.R. (2014) – Microbiological attributes in a Latosol in glyphosate application under water deficit conditions. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 9, n. 32, p. 2495-2505. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2013.7382>